

# PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

*In Gemeinschaft mit*

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Appel-Berlin-Dahlem, Prof. Dr. Atanasoff-Sofia, Prof.  
Dr. Boas-München, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Foex-Paris,  
Prof. Dr. Gäumann-Zürich, Prof. Dr. und Dr. h. c. Klebahn-Hamburg, Regierungsrat  
Dr. E. Köhler-Berlin-Dahlem, Prof. Dr. Liro-Helsinki, Prof. Dr. Müller-Berlin-Dahlem,  
Prof. Dr. E. Münch-München, Prof. Dr. Naumov-Leningrad, Prof. Dr. Petri-Rom,  
Prof. Dr. Quanjer in Wageningen, Prof. Dr. Stakman-St. Paul, U. S. A., Prof. Dr.  
Takewo Hemmi-Kyoto, Prof. Dr. Westerdijk-Baarn

*herausgegeben von*

PROF. DR. G. GASSNER-ANKARA

BAND IX



Mit 208 Textabbildungen

1936

VERLAG VON PAUL PAREY IN BERLIN

*Phytopath. Z. Bd. 9 S. 1—636, Bln. 1936*



## Inhaltsverzeichnis.

### Band IX.

	Seite
Bechold, H. und Erbe, F., Versuche zur Aufklärung des Mechanismus der „Kupferprobe“ zur Feststellung des Kartoffelabbaues . . . . .	259
Becker, Theodor, Untersuchungen über Sexualität bei <i>Tilletia tritici</i> (Bjerk.) Wint. im Rahmen der Immunitätszüchtung . . . . .	187
Böning, K. und Wallner, F., Welke, Fußkrankheit und andere Schädigungen an Mais durch <i>Colletotrichum graminicolum</i> (Ces.) Wilson . . . . .	99
Bornhövd, Liselotte, Beiträge zur Biologie von <i>Ustilago hypodites</i> (Schldl.) Fr. auf <i>Elymus arenarius</i> L. . . . .	69
Bremer, H., Zur Bekämpfung des Zwiebelbrandes . . . . .	53
Bussmann, B., Untersuchungen über die Virulenz von <i>Ophiobolus graminis</i> Sacc. . . . .	571
Gaßner, G. und Goeze, G., Einige Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit rostinfizierter Getreideblätter . . . . .	371
Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Untersuchungen zur Frage der Getreiderostbekämpfung mit chemischen Mitteln . . . . .	427
Gaßner, G. und Kirchhoff, H., Die Bedeutung der Wasseraufnahme des Weizenkorns, insbesondere des Weizenembryos, für Wirkung und Wirkungsweise der Warmwasser-tauch- und -benetzungsbeize . . . . .	229
Gaßner, G. und Straib, W., Untersuchungen zur Bestimmung der Ernteverluste des Weizens durch Gelb- und Schwarzrostbefall . . . . .	479
Gäumann, Ernst, Über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen II . . . . .	325
Gitman, L. und Boitschenko, E., Zur Frage der Verschiedenheit der zwei Septorien des Kendyrs <i>Septoria littorea</i> Sacc. und <i>Septoria apocyni</i> Chochrjak . . . . .	337
Hassebrauk, K., Pilzliche Parasiten der Getreideroste . . . . .	513
Kalinenko, V. O., The inoculation of phytopathogenic microbes into rubber-bearing plants by nematodes . . . . .	407
Kostoff, Dontcho, Virus and Genic Reactions in Morphogenetic, Physiogenetic and Phylogenetic Aspects . . . . .	387
Klebahm, H., Versuche über das Wesen des Virus der Mosaikkrankheit des Tabaks und über einige andere Viruskrankheiten . . . . .	357
Lange-de la Camp, Maria, Gewinnung und Kultur der Haplonten von <i>Ustilago tritici</i> . . . . .	455
Langner, W., Untersuchungen über Lärchen-, Apfel- und Buchenkrebs . . . . .	111
Némec, Antonin, Über die Zusammensetzung der Mineralstoffe in krebsbefallenen Kartoffelknollen . . . . .	417
Neubauer, Hans Franz, Der Einfluß der Verwundung auf die Photosynthese . . . . .	517
Noll, Alfred, Experimentelle Untersuchungen über den Befall des Weizens mit <i>Penicillium</i> . . . . .	147
Rippel, Karl, Über Begriff und Wesen der Bodenmüdigkeit . . . . .	507
Sattler, F., Zur Biologie von <i>Thielavia basicola</i> (B. et Br.) Zopf . . . . .	1
Sprengel, Friedrich, Über die Kropfkrankheit an Eiche, Kiefer und Fichte . . . . .	583
Wartenberg, Hans und Lindau, Gero, Studien über die „Dehydrasewirkungen“ gesunder und abbaukranker Kartoffelknollen . . . . .	297
Wartenberg, Hans und Hey, Alfred, Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. 4. Mitt. . . . .	531
Wenzl, Hans, Eine neue Blattfleckenkrankheit des Apfels ( <i>Phyllosticta angulata</i> n. sp.)	349

# Inhaltsverzeichnis.

Seite

## Heft 1.

Zur Biologie von <i>Thielavia basicola</i> (B. et Br.) Zopf. Von <b>F. Sattler</b> . (Mit 15 Textabb.)	1
Zur Bekämpfung des Zwiebelbrandes. Aus der Zweigstelle Aschersleben der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft. Von <b>H. Bremer</b> . (Mit 5 Textabb.)	53
Beiträge zur Biologie von <i>Ustilago hypodites</i> (Schldl.) Fr. auf <i>Elymus arenarius</i> L. Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg. Von <b>Liselotte Bornhövd</b> . . . . .	69
Welke, Fußkrankheit und andere Schädigungen an Mais durch <i>Colletotrichum graminicolum</i> (Ces.) Wilson. Aus der Bayerischen Landesanstalt für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, München. Von <b>K. Böning</b> und <b>F. Wallner</b> . (Mit 7 Textabbildungen) . . . . .	99

## Heft 2.

Untersuchungen über Lärchen-, Apfel- und Buchenkrebs. Aus dem Forstbotanischen Institut der Bayerischen Forstlichen Versuchsanstalt in München. Von <b>W. Langner</b> . (Mit 11 Textabbildungen) . . . . .	111
Experimentelle Untersuchungen über den Befall des Weizens mit <i>Penicillium</i> . Von <b>Alfred Noll</b> . (Mit 6 Textabbildungen) . . . . .	147
Untersuchungen über Sexualität bei <i>Tilletia tritici</i> (Bjerk.) Wint. im Rahmen der Immunitätszüchtung. Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle. Von <b>Theodor Becker</b> . (Mit 8 Textabbildungen) . . . . .	187

## Heft 3.

Die Bedeutung der Wasseraufnahme des Weizenkorns, insbesondere des Weizenembryos, für Wirkung und Wirkungsweise der Warmwassertauch- und -benetzungsbeize. Von <b>G. Gaßner</b> und <b>H. Kirchhoff</b> . . . . .	229
Versuche zur Aufklärung des Mechanismus der „Kupferprobe“ zur Feststellung des Kartoffelabbaues. Aus dem Institut für Kolloidforschung zu Frankfurt a. M. Von <b>H. Bechold</b> und <b>F. Erbe</b> . (Mit 4 Textabbildungen) . . . . .	259
Studien über die „Dehydrasewirkungen“ gesunder und abbaukranker Kartoffelknollen. Von <b>Hans Wartenberg</b> und <b>Gero Lindau</b> . . . . .	297
Über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen II. Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. Von <b>Ernst Gämänn</b> . (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	325
Zur Frage der Verschiedenheit der zwei Septorien des Kendyrs <i>Septoria littorea</i> Sacc. und <i>Septoria apocyni</i> Chochrak. Aus dem Laboratorium für Pflanzenschutz des Instituts für Neuen Rohbast (Moskau). Von <b>L. Gitman</b> und <b>E. Boitschenko</b> . (Mit 9 Textabb.)	337
Eine neue Blattfleckenkrankheit des Apfels ( <i>Phyllosticta angulata</i> n. sp.). Aus der Bundesanstalt für Pflanzenschutz, Wien. (Mit 2 Textabbildungen) . . . . .	349

## Heft 4.

Versuche über das Wesen des Virus der Mosaikkrankheit des Tabaks und über einige andere Viruskrankheiten. Von <b>H. Klebahn</b> . (Mit 2 Textabbildungen) . . . . .	357
Einige Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit rostinfizierter Getreideblätter. Von <b>G. Gaßner</b> und <b>G. Goeze</b> . (Mit 13 Textabbildungen) . . . . .	371
Virus and Genic Reactions in Morphogenetic, Physiogenetic and Phylogenetic Aspects. By <b>Dontcho Kostoff</b> . Institute of Genetics, Academy of Sciences of the USSR., Moscow. (With 12 Figures) . . . . .	387

The inoculation of phytopathogenic microbes into rubber-bearing plants by nematodes. By V. O. Kalinenko. From the State Institute for Rubber and Gutta-Percha, Moscow. (With 7 Figures) . . . . .	407
Über die Zusammensetzung der Mineralstoffe in krebsbefallenen Kartoffelknollen. Von Antonín Němec . . . . .	417
Untersuchungen zur Frage der Getreiderostbekämpfung mit chemischen Mitteln. Von G. Gaßner und K. Hassebräuk . . . . .	427

#### Heft 5.

Gewinnung und Kultur der Haplonten von <i>Ustilago tritici</i> . Von Maria Lange-de la Camp. Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle. (Mit 16 Textabbildungen) . . . . .	455
Untersuchungen zur Bestimmung der Ernteverluste des Weizens durch Gelb- und Schwarzerrostbefall. Von G. Gaßner und W. Straib. Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode. (Mit 4 Textabbildungen) . . . . .	479
Über Begriff und Wesen der Bodenmüdigkeit. Von Karl Rippel. Aus dem Botanischen und Pflanzenpathologischen Institut der Technischen Hochschule in München . .	507
Pilzliche Parasiten der Getreideroste. Von K. Hassebräuk. Aus der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig-Gliesmarode . . . . .	513
Der Einfluß der Verwundung auf die Photosynthese. Von Hans Franz Neubauer, Wördern. (Mit 6 Textabbildungen) . . . . .	517

#### Heft 6.

Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. Von Hans Wartenberg und Alfred Hey. Biologische Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem. (Mit 16 Textabbildungen) . . . . .	531
Untersuchungen über die Virulenz von <i>Ophiobolus graminis</i> Sacc. Von Dr. B. Bussmann. (Mit 5 Textabbildungen) . . . . .	571
Über die Kropfkrankheit an Eiche, Kiefer und Fichte. Von Forstreferendar Friedrich Sprengel. (Mit 53 Textabbildungen) . . . . .	583

---



# Zur Biologie von *Thielavia basicola* (B. et Br.) Zopf.<sup>1)</sup>

Von  
F. Sattler.

Mit 15 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht: Einleitung. — Vorversuche und Versuchsmethodik. — Versuche über den Einfluß von Umweltbedingungen. Allgemeines. — Einfluß der Bodenfeuchtigkeit, der Temperatur, des Kohlensäuregehaltes der Luft, des Lichtes, der Ernährung der Wirtspflanze, mechanischer Schwächungen der Pflanzen und verschiedener Bodenarten. — Untersuchungen über die Aufspaltung von *Thielavia basicola* in biologische Rassen bzw. biologische Unterarten. — Zusammenfassung der Versuchsergebnisse. — Literaturverzeichnis.

## Einleitung.

Die deutsche Literatur über den Pilz *Thielavia* war bislang lückenhaft, und insbesondere war die parasitologische Stellung des Pilzes unsicher. Im Jahre 1876 fand Zopf (52) an Wurzeln von *Senecio elegans* einen Pilz, den er *Thielavia basicola* nannte. 1891 erschien ebenfalls von Zopf (53) eine eingehende Beschreibung des Pilzes. Zopf hebt in dieser Arbeit hervor, den Pilz nur aus Kleinkulturen und nicht als epidemisch auftretenden Schädling zu kennen. Sorauer (47) fand *Thielavia* an *Cyclamenwurzeln* und weist darauf hin, daß wahrscheinlich besondere Umstände nötig seien, um den Pilz parasitär werden zu lassen. Dieser Auffassung Sorauers schließt sich Aderhold (1) an, dessen Versuche, verschiedene Pflanzen zu infizieren, nur sehr geringen oder gar keinen Erfolg brachten.

Einwandfreie experimentelle Untersuchungen über den Parasitismus von *Thielavia basicola* lagen überhaupt nicht vor. Man nahm vielmehr in Deutschland an, daß es sich um einen verhältnismäßig harmlosen Gelegenheitsparasiten handele, der mit dem Verlegenheitsausdruck „Schwächeparasit“ abgetan werden könne.

So standen unsere Kenntnisse in bezug auf den Parasitismus des Pilzes bis zum Jahre 1916. Zu diesem Zeitpunkt erschien eine sehr ausführliche Arbeit von Johnson (26) über den Wirkskreis von *Thielavia*. Daran reihte sich in rascher Folge eine größere Zahl von Veröffentlichungen amerikanischer Forscher, so die von Johnson und Hartman (27),

<sup>1)</sup> Erscheint gleichzeitig als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Hessischen Landes-Universität Gießen.

Anderson, Morgan, Osmün und Doran (2, 3, 4, 19, 20, 35) und von anderen. Diese Literatur war uns in Deutschland aber infolge des Weltkrieges und auch in den Nachkriegsjahren, in denen die Verbindung mit Amerika noch höchst mangelhaft war, nicht bekannt.

In diesen Jahren wurden einige orientierende Versuche mit *Thielavia* im Bonner Institut für Pflanzenkrankheiten ausgeführt, die eine exakte Untersuchung über den Pilz, namentlich in parasitologischer Hinsicht, dringend erwünscht erscheinen ließen. Es ist dann auch einiges über *Thielavia* veröffentlicht worden (Schaffnit und Meyer-Hermann, 45). Diese Untersuchungen bewegten sich jedoch nur in einer ganz bestimmten Richtung im Rahmen einer Arbeit, in die auch andere Parasiten einbezogen waren.

Die damals mit den Instituten Amerikas aufgenommene Verbindung brachte dann erst die in den Vorjahren erschienenen Arbeiten zu einem Zeitpunkt zu unserer Kenntnis, zu dem bereits ein Arbeitsplan in Angriff genommen war. Die Folge davon ist, daß die vorliegende Arbeit nicht nur Neues, sondern auch manche Bestätigungen bringt. Es wird aber im nächsten Kapitel gezeigt werden, daß grundsätzlich doch der Problemstellung eine andere Auffassung zugrunde gelegt ist und eine Versuchsanstellung gewählt wurde, die von der Versuchstechnik der amerikanischen Forscher abweicht.

Entsprechend der seit Aufbau des Bonner Instituts verfolgten Arbeitsrichtung, nämlich der Betrachtung parasitärer Pilze in ihrer Abhängigkeit von den Umweltbedingungen, tritt dieses Moment in vorliegender Arbeit besonders hervor. Darüber hinaus haben aber die Berichte amerikanischer Forscher über die hohe Pathogenität des Pilzes angeregt, der Spezialisierung von *Thielavia basicola* in biologische Rassen bzw. biologische Unterarten nachzugehen. Steht doch den Beobachtungen der obengenannten deutschen Forscher über eine sehr geringe Pathogenität und Schadwirkung das Ergebnis der Versuche und Beobachtungen amerikanischer und italienischer Autoren gegenüber. So schätzt, um nur einen Fall herauszugreifen, Johnson den jährlich durch *Thielavia* an Tabak in Amerika verursachten Schaden auf 20 Millionen Dollar und gelangt auf Grund seiner eingehenden Beobachtungen zu der Auffassung, daß *Thielavia basicola* einer der bedeutsamsten Tabakschädlinge sei, mit denen die amerikanischen Tabakbauern zu rechnen hätten. Hierzu kommt, daß nach unseren Beobachtungen der Pilz auch an Rüben und Lupinen in größerem Umfange schädlich aufzutreten scheint. Es sei hier auch unsere Vermutung ausgesprochen, daß gewiß manche Keimschädigungen, beispielsweise an auflaufenden Lupinen, irrtümlicherweise ganz oder nur teilweise mit Recht dem Befall durch die Lupinenfliege zugeschrieben worden sind. Ähnlich mag es bei Bohnen und anderen Wirtspflanzen der *Thielavia* gewesen sein.

Außer den genannten Anregungen aus der Literatur haben sich Ausblicke für den Weiterverfolg mancher in Arbeit genommenen Fragen ergeben, die aber in dem Rahmen der vorliegenden Untersuchungen nicht mehr Aufnahme finden konnten. Dies gilt unter anderem besonders für Fragen zur Morphologie und systematischen Stellung des Pilzes. Besonders hinsichtlich letzterer erscheint nach gelungener Auffindung einer höheren Fruchtform (Perithezien) des Pilzes die Möglichkeit einer eindeutigen Lösung gegeben.

Über diese Fragen soll später, nach Abschluß der laufenden Versuche in einer besonderen Abhandlung berichtet werden. Dort wird dann auch über diejenigen Arbeiten anderer Forscher, die mir bis jetzt noch nicht zugänglich waren, berichtet und eine möglichst umfassende Zusammenstellung der Literatur über diesen Gegenstand gebracht werden.

### Vorversuche und Versuchsmethodik.

Die ersten Versuche, die in der Hauptsache der Erzielung von Infektionsbildern dienen sollten und gleichzeitig als Wegweiser für die einzuschlagende Methodik der Untersuchungen gedacht waren, brachten den gewünschten Erfolg in nur geringem Maße.

Die Versuchspflanzen waren: *Nicotiana tabacum* (Sorte unbekannt), *Nicotiana rustica*, *Phaseolus vulgaris* (Sorte „Doppelte Prinzeß“ und „Wachs mont d'or“), *Lupinus angustifolius* und *luteus*, *Pisum sativum* (Sorte „Schal-Expreß“ und „Zucker-Bismarck“).

Hinsichtlich des Substrates wurden zwei Reihen gewählt. Die erste Reihe bestand aus sterilisierter Gartenerde (Löß-Lehm) ohne besondere Düngung, die zweite aus einem Sand-Torf-Gemisch (100:6) mit dem für Ernährungsversuche (Reihe „normal“) im Bonner Institut üblichen Zusatz an Nährlösung (siehe Seite 6). Das Substrat wurde mit Infektionsstoff gemischt und dann in gewöhnliche Blumentöpfe gefüllt.

Das Ausgangsmaterial für die Beschickung des Substrates mit *Thielavia*-Konidien lieferte eine anlässlich früherer Untersuchungen (Schaffnit und Meyer-Hermann, 45) im Bonner Institut gewonnene Reinkultur des Pilzes, der seither mehrere Jahre lang künstlich kultiviert worden war. Von dieser Kultur (im folgenden Stamm „0“ genannt) wurden Abimpfungen vorgenommen. Sporenaufschwemmungen derselben dienten dann als Infektionsstoff.

In das mit dem Pilz beschickte Substrat wurden Bohnen, Lupinen und Erbsen eingesät. Der Tabak wurde eingepflanzt, nachdem er in Sand-Torf-Gemisch ausgesät und einmal pikiert worden war.

Nach sieben Wochen ergab die Untersuchung der Wurzeln an beiden Tabakarten keine, an Bohnen, Erbsen und *Lupinus luteus* geringe und an *L. angustifolius* etwas stärkere Infektion der Wurzeln und des Wurzelhalses.

Während der Dauer des Versuches standen die Töpfe in einem Gewächshaus, dessen seitliche Fenster zum Teil herausgenommen waren, und wurden regelmäßig begossen. Trotzdem trockneten sie verhältnismäßig schnell aus, und der Boden war jedenfalls die meiste Zeit eher zu trocken als zu feucht. Aus diesem Grunde wurde der mangelnden Feuchtigkeit die Schuld an dem geringen Befall beigegeben, zumal sich aus der Literatur eine Reihe Anhaltspunkte dafür ergaben, daß die Stärke des Befalls von dem Grad der Boden- und Luftfeuchtigkeit in hohem Maße abhängig ist.

Der Versuch wurde unter Beibehaltung aller bisherigen Bedingungen wiederholt, die Töpfe fanden aber diesmal in mit Wasser gefüllten Zinkblechuntersätzen Aufstellung, so daß das Substrat stets mit Feuchtigkeit

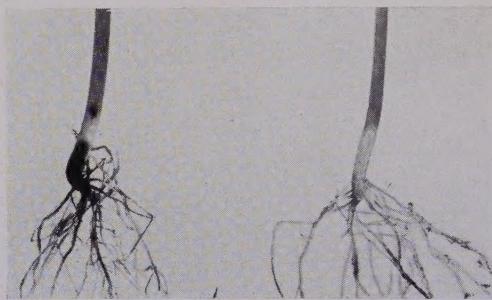


Abb. 1.  
Befallsbild an Bohnenwurzeln.  
Links befallen, rechts gesund.

gesättigt war. Da die Außentemperatur im Sommer 1932 sehr hoch war, gediehen die Pflanzen ausgezeichnet. Bei der Ernte dieses modifizierten Versuches ergab sich bedeutend stärkerer Befall an Bohnen (siehe Abb. 1), Lupinen und Erbsen. Dagegen war an beiden Tabakarten wiederum keine Infektion festzustellen!

Diese beiden Vorversuche ließen zunächst die Abhängigkeit der Befallsintensität von der Bodenfeuchtigkeit, also von einer Umweltbedingung, klar erkennen. Darüber hinaus aber folgte aus den Ergebnissen dieser Versuche eine Reihe von Fragen, die für die Durchführung der vorliegenden Arbeit wesentlich richtunggebend wurden. So war zunächst die Frage: Warum wurde Tabak, der doch eine der Hauptwirtspflanzen von *Thielavia basicola* ist, nicht befallen? Dies konnte seinen Grund in einer stark ausgeprägten Widerstandsfähigkeit der verwendeten Sorten haben. Daß die verschiedenen Tabaksorten eine außerordentlich verschiedene Anfälligkeit gegenüber *Thielavia* besitzen, zeigte Johnson (28) in sehr eingehenden Untersuchungen. Es konnte aber auch möglich sein, daß der benutzte Stamm 0 zwar für Bohnen, Lupinen und Erbsen

aggressiv war, dagegen nicht die Fähigkeit besaß, Tabak anzugreifen. Zur Nachprüfung der letzteren Frage galt es, einen Pilzstamm aus der Gegend zu erhalten, in der *Thielavia* besonders an Tabak schädlich auftrat. Professor Johnson in Madison stellte liebenswürdigerweise eine von Tabak isolierte Reinkultur zur Verfügung. Nach Vermehrung dieser Reinkultur (in der Folge Stamm „A“ genannt) wurde dann mit Sporenaufschwemmungen von gleichaltrigen Kulturen beider Stämme, O und A, ein Vergleichsversuch unter denselben Bedingungen wie im zweiten der beiden oben beschriebenen Versuche angesetzt.

Das Ergebnis war klar und überraschend. Stamm A infizierte Tabak (siehe Abb. 2) und Bohnen stark, Stamm O infizierte nur Bohnen. Lupinen und Erbsen waren in diesem Versuch weggelassen



Abb. 2.  
Befallsbild an Tabak.

worden. Es war also nicht Widerstandsfähigkeit der Sorte, sondern mangelnde Angriffsfähigkeit des Stammes O gewesen, wenn in den beiden erstgenannten Versuchen Tabak gesund geblieben war.

Auf Grund des Ergebnisses dieser Vorversuche wurde die Arbeit in zwei Hauptteile gegliedert. Im ersten Teil sollte der Einfluß von Umweltbedingungen, unabhängig von Resistenzunterschieden der Wirtspflanzen und Virulenzunterschieden des Pilzes, untersucht werden. Es wurden daher die Versuche dieses ersten Teils sämtlich mit einem im Vergleich zu anderen als sehr virulent bekannten Stamm (A) und mit erfahrungsgemäß anfälligen Wirtspflanzen-Arten bzw. -Sorten durchgeführt.

Der zweite Teil galt der Untersuchung der Virulenzunterschiede. Vor allem war zu klären, inwieweit sich die Virulenz bzw. die Aggressivität von *Thielavia* unter verschiedenen Bedingungen ändert und ob verschiedene Pilzherküünfte als biologische Rassen oder biologische Unterarten gelten konnten. In diese Versuche wurden daher eine Reihe

von Pilz-Stämmen und Wirtspflanzen-Arten und -Sorten unterschiedlichen Anfälligkeitgrades einbezogen.

Für beide obengenannten Versuchsserien war die Methodik der Versuchsanordnung dieselbe.

Mit Ausnahme der Feuchtigkeits- und Ernährungsversuche, die in Vegetationsgefäß von 10 kg Inhalt ausgeführt wurden, dienten für alle Versuche gewöhnliche Blumentöpfe von ca. 14 cm Durchmesser als Kulturgefäße. Das Substrat war in den meisten Fällen die schon mehrfach erwähnte Mischung von Grubensand und Torfmull. Die Düngung dieses Gemischs, das fast keinerlei Nährstoffe enthielt, erfolgte in der Weise, daß auf 9 kg der Mischung je 10 ccm einer Lösung von

$\text{KCl}$  (158 g in Wasser zu 1 Liter gelöst),

$\text{NH}_4\text{NO}_3$  (287 g in Wasser zu 1 Liter gelöst),

$\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2$  (164 g in Wasser zu 1 Liter gelöst)

gegeben wurden. Sand und Torf wurde in Haufen gemischt und mit der berechneten Menge Nährlösung, mit einer größeren Menge Wassers verdünnt, versetzt. Nach gründlicher Durchmischung mit der Schaufel kam die Masse nach eintägigem Stehen in die vorher sorgfältig gewaschenen Töpfe.

Da die Versuche mit einer großen Anzahl von Töpfen ausgeführt wurden (insgesamt etwa 2000 Blumentöpfen und 300 Vegetationsgefäß) war es nötig, eine einfache und sichere Impfmethode auszuarbeiten.

Alle Autoren, die sich mit unserem Parasiten befaßt haben, brachten bei ihren Infektionsversuchen natürlich verseuchte Erde zur Anwendung. Diese bedeutet selbstverständlich niemals dasselbe wie das Arbeiten mit Reinkulturen, in der der anzuwendende Parasit konkurrenzlos das Feld beherrscht und auf diese Weise im Versuch zu absoluten Werten führt. Bei Anwendung natürlich verseuchter Erde kann der Verlauf der Infektion und der Erkrankung niemals so gleichmäßig gestaltet werden wie in der Reinkultur, weil sich im Wechselspiel der Kräfte zwischen dem Parasiten und der übrigen allgemeinen Mikroflora des Bodens die Lebensbedingungen für den zu untersuchenden Parasiten verändern.

Wir erkennen nicht, daß die Anwendung des natürlich verseuchten Substrates auch große Vorteile hat und vor allem den natürlichen Verhältnissen bedingungsweise am nächsten kommt; bedingungsweise deshalb, weil die Zusammensetzung der Bodenflora mit dem Ort, der Verbreitung der Bodenorganismen, der Bodenart usw. stark wechseln muß und die Anwendung verseuchter Erde demzufolge auch wiederum nur bedingt einwandfreie Werte liefert.

Bei den wichtigsten, mit durch *Thielavia basicola* verseuchten Boden ausgeführten Arbeiten der verschiedenen Autoren wurde für die vergleichenden Kontrollversuche nicht natürliches, von dem Parasiten freies Substrat gewählt, sondern es wurde derselbe verseuchte Boden, aber für

die Kontrollen sterilisiert, verwendet. Nun ist aber der Einfluß der Sterilisierung des Bodens auf das Wachstum der Pflanzen an sich, wie auch auf Infektion und Krankheitsverlauf hinlänglich bekannt.

In sterilisiertem Boden ist die Entwicklung der Pflanzen ganz bedeutend üppiger als in nicht sterilisiertem Boden. Die Unterschiede können solch extreme Formen annehmen, daß man versucht ist, die in sterilisiertem Boden gezogenen Pflanzen geradezu als ein Produkt von Nährstoffüberschuß gegenüber Nährstoffmangel-Pflanzen in nicht sterilisiertem Boden zu vergleichen. Die Hauptursache dieser Erscheinung dürfte darin zu suchen sein, daß durch die Sterilisation tatsächlich eine Nährstoffzufuhr bewirkt wird, dadurch, daß stickstoffhaltige, organische Substanz, hauptsächlich Humusstoffe, in eine für die Pflanze aufnehmbare Form übergeführt wird. Die Folge davon ist, daß man beim Arbeiten mit natürlich verseuchtem Boden einerseits und für die Kontrollen sterilisiertem Boden andererseits das Schadmaß niemals einwandfrei ermitteln kann. Zumal müssen die Kontrollpflanzen auf Grund der genannten Erscheinungen stets ein zu hohes bzw. zu günstiges Resultat ergeben.

Aus diesen Erwägungen heraus wurde für alle Versuche nur die künstliche Beimpfung in Betracht gezogen.

Für jede Impfmethode waren bei der beabsichtigten Zahl der Versuche große Mengen von Sporenmaterial erforderlich, deshalb wurde zunächst die Eignung einer größeren Zahl fester und flüssiger Nährmedien für die Kultur des Pilzes durchgeprüft. Es gelangten zur Untersuchung: Kartoffelstückchen, Kartoffelsaft-Agar, Kartoffelsaft (einmal durch Kochen, einmal durch Ausfrieren hergestellt), Möhrenstückchen, Möhrensaft und -Agar, Hafermehl-Agar, Stengel von Bohnen, Erbsen, Lupinen, Tabak; Fleischextrakt-Agar und -Lösung; schließlich anorganische Nährlösungen mit Zuckerzusatz. Von den genannten Agar-Substraten befriedigte nur Hafermehl-Agar. Saft und Stücke von Möhren und Kartoffeln erwiesen sich als allen anderen Medien überlegen. Aus Gründen der Zweckmäßigkeit gelangten nach diesen Beobachtungen für Reagenzglas-Kulturen schiegeschnittene Kartoffelstückchen, für Massenvermehrung in Erlenmeyerkolben Kartoffelsaft zur Anwendung.

Für die Kulturen auf Kartoffelstückchen wurden aus einer beiderseits glattgeschnittenen Kartoffel mit Hilfe eines Korkbohrers Zylinder ausgestochen und diese der Länge nach schief durchgeschnitten. Dadurch ergab sich, ähnlich wie bei zum Erkalten schiefegelegten Agar-Röhrchen, eine vergrößerte Oberfläche. Auf so bereitem Substrat wuchs der Pilz vorzüglich. Sämtliche Isolationen, über die im zweiten Teil berichtet ist, sowie die dauernde Erhaltung des Pilzes in künstlicher Kultur bis heute, wurden auf diesen Kartoffelstückchen bewirkt.

Zur Herstellung von Kartoffelsaft für stärkere Vermehrung in Kolben wurden die gut gewaschenen Kartoffeln mitsamt der Schale in einer

Brot-Reibemaschine zu einem groben Brei geraspelt. Dieser wurde hierauf durch ein Tuch gepreßt. Auf ein Teil Saft kamen dann noch drei Teile Wasser. Auch in diesem Medium konnten bestes Wachstum und reichliche Sporenbildung erzielt werden.

Aus diesen Kartoffelsaft-Kulturen gewannen wir die zur Impfung für alle im Folgenden beschriebenen Versuche benötigten Sporenaufschwemmungen in der Weise, daß die gut durchwachsenen Kulturen, d. h. 15 bis 18 Tage nach der Beimpfung, mit etwa der zehnfachen Menge Wasser verdünnt und einige Male gut durchgeschüttelt wurden. Zum Zeitpunkt der Verwendung der Kulturen hatte die Chlamydosporenbildung noch nicht oder nur in sehr geringem Maße eingesetzt, so daß also praktisch alle Impfungen mit den sofort und massenhaft gebildeten Konidien (Beschreibung siehe Zopf, 53) durchgeführt wurden.

Um eine zweckentsprechende und gleichzeitig möglichst einfache und gleichmäßig wirkende Infektionsmethode zu finden, gelangte ein vergleichender Versuch mit Tabak, Bohnen und Lupinen in drei Reihen zur Durchführung. In der ersten Reihe wurde die Sporenaufschwemmung dem Substrat beigemischt und Tabak eingepflanzt. Die Bohnen und Lupinen wurden eingesät. In der zweiten Reihe erfuhr das Substrat dieselbe Behandlung, dagegen wurden hier auch Bohnen und Lupinen eingepflanzt. In der dritten Reihe endlich blieb das Substrat unbehandelt, die Pflanzen wurden wiederum vorgezogen und unmittelbar vor dem Einpflanzen in die Versuchstöpfe mit den Wurzeln in die Sporenaufschwemmung getaucht. Die zur Kontrolle dienenden Pflanzen wurden vor dem Einpflanzen in gewöhnliches Wasser getaucht, um die Bedingungen möglichst gleichmäßig zu gestalten.

Bei der Ernte zeigten sich wohl geringe Befallsunterschiede zwischen den drei Reihen, dagegen waren die relativen Unterschiede des Befalls innerhalb derselben Reihe in allen drei Fällen dieselben.

Nach Johnson und Hartman (27) ist die Befallsintensität auch von der Menge des die Wurzeln umgebenden Infektionsmaterials abhängig. Da in den folgenden Versuchen immer die relativen Befallsunterschiede, hervorgerufen durch unterschiedliche Resistenz der Pflanzen, durch verschiedene Pilzstämme oder durch graduell verschiedene Einwirkung von Umwelteinflüssen an dem Befallsgrad innerhalb der Reihe und die absolute Befallsintensität an Kontrollpflanzen gemessen wurden, war es prinzipiell gleichgültig, welche Impfmethode Anwendung fand.

Gewählt wurde die in der dritten Reihe des obigen Versuchs angewandte Methode. Einmal weil sie am einfachsten ist, dann weil sie gestattet, mit verhältnismäßig wenig Infektionsmaterial auszukommen, und endlich vor allem, weil sie den großen Vorzug hat, aus einer großen Zahl auf kleinem Raum herangezogener Pflanzen die jeweils benötigte Zahl gut und gleichmäßig entwickelter auswählen zu können. Die auf diese

Weise von Anbeginn des Versuchs gewährleistete Gleichmäßigkeit erlaubte, daß man nur etwa 10—12 Pflanzen aus einer Reihe der Auswertung der Versuchsergebnisse zugrunde zu legen brauchte. Bei Einsaat von Bohnen und Lupinen in beimpftes Substrat hätte mit Unregelmäßigkeiten der Keimung und des Wachstums gerechnet und demzufolge eine weit größere Zahl von Pflanzen je Reihe verwendet werden müssen. Dies wäre bei der oft sehr ausgedehnten Anordnung der Versuche schon aus Raumangst unmöglich gewesen. Mußten doch im Interesse gleichmäßiger Umweltbedingungen z. B. die im zweiten Teil zu beschreibenden Versuche mit 13 Stämmen und 7 Wirtspflanzen-Sorten (mit Kontrollen über 1000 Pflanzen in über 300 Töpfen) unbedingt zur selben Zeit und am selben Ort gemacht werden.

Für Lupinen, die sich schlecht verpflanzen lassen, wurde die gewählte Impfmethode noch etwas abgewandelt. Nach Ankeimung in Sand-Torf wurden aus den Keimlingen, wenn sie etwa 5 cm Länge erreicht hatten, gut entwickelte und gleichmäßig große ausgesucht und diese in Löcher im Sand-Torf-Gemisch der Versuchstöpfe so tief eingesenkt, daß die Kotyledonen eben über die Substratoberfläche ragten. Nachdem in die noch offenen Löcher zu den Keimlingen je eine abgemessene Menge Sporenaufschwemmung gegeben worden war, wurden die Löcher mit Wasser zugeschwemmt.

Die Versuchsgefäße standen, soweit es sich nicht um Temperaturversuche handelte, sämtlich in einem großen Gewächshaus, dessen Seitenwände im Sommer teilweise herausgenommen wurden.

Schon die ersten Versuche hatten gezeigt, daß bei äußerlich d. h. oberirdisch, in der Entwicklung der Pflanzen sehr weitgehend in Erscheinung tretender Schädigung beispielsweise durch zwei verschiedene virulente Stämme, am Infektionsort, also an Wurzeln und Wurzelhals, die Befallsintensität viel weniger unterschiedlich festgestellt werden konnte. Hatte überhaupt Befall stattgefunden, so trat dieser durch mehr oder weniger starke Bräunung oder Schwärzung der befallenen Wurzeln oder Stengelteile zutage; eine feine Differenzierung solcher äußerlich oft nur in der Farbnüancierung bestehenden Unterschiede erschien schwierig. Exakterweise konnte nach dem Befall an Wurzeln und Wurzelhals nur auf „stark“, „mittel“ oder „schwach“ erkannt werden. Der Versuch, an Wurzel- bzw. Stengel-Querschnitten mikroskopisch den Grad des Befalls etwa an der verschieden tiefgehenden Zerstörung der Zellschichten zu messen, ergab ebenfalls kein befriedigendes Maß für den unterschiedlichen Befall. Die äußeren Schichten der Wurzeln waren stets vom Pilz besiedelt und verfärbt. Die Zellen der Pflanze erschienen dicht mit den Chlamydosporen angefüllt, und zwar, wie sich aus entsprechenden Längsschnitten ergab, reihenweise, dem Verlauf der Zellen genau folgend. Obwohl eine sehr große Zahl solcher Quer- und Längsschnitte aus den verschiedensten

Versuchsreihen angefertigt und untersucht wurde, konnte daraus keine Methode der Versuchsauswertung abgeleitet werden, da Unterschiede womöglich noch weniger und verwischter auftraten als bei dem obenerwähnten äußereren Befallsbild.

Um nun ein Maß für die Auswirkung aller in den folgenden Versuchen angewandten Bedingungen sowohl seitens des Wirtes wie seitens des Krankheitserregers zu haben, wurde auch für die Ernte ein besonderes Schema ausgearbeitet.

Um das Ergebnis der Infektion zu erfassen, gibt es verschiedene Möglichkeiten. Man kann einmal versuchen, das Befallsbild möglichst scharf zu umschreiben und den Befall graduell nach einem bestimmten Schema festzulegen, so wie dies in früheren, aus dem Bonner Institut hervorgegangenen Arbeiten über die Wechselbeziehungen zwischen Kulturpflanzen, Umwelt und Parasiten geschehen ist. Man kann ferner die Gesamtentwicklung der Pflanzen durch vergleichende Betrachtung von gesunden Kontrollpflanzen und von befallenen Pflanzen festlegen. Und man kann schließlich versuchen, die vergleichende Betrachtung von infizierten und nichtinfizierten Pflanzen durch gewichtsmäßige Feststellungen zu ermitteln und so das Maß der Schädigung zu erfassen.

Es handelt sich für unsere Versuche um unterirdische Pflanzenteile. Das Ergebnis der Infektion läßt sich nicht kontinuierlich verfolgen etwa durch Festlegung der Inkubationsdauer oder durch Einschaltung des progressiven Moments, also durch die zunehmende Ausdehnung des Infektionsherdes, weil man naturgemäß die Pflanzen nicht ständig aus dem Boden nehmen und in der Entwicklung stören kann. Oder aber es wäre für eine derartige Versuchsdurchführung eine ungeheure Zahl von Pflanzen notwendig.

Nach diesen Ausführungen war, mit wenig Ausnahmen, die Beschränkung auf die beiden letzten Formen zahlenmäßiger Bestimmung der Schädigung geboten. Nur bei den Versuchen über den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit und einigen anderen war auch die Einbeziehung des Befallsbildes in die Beurteilung des Schadmaßes möglich.

Alle Versuche standen solange, bis sich ganz deutliche Unterschiede in den einzelnen Reihen hinsichtlich Wuchsgröße, Blattmasse und -färbung herausgeschält hatten. Nun wurden die Pflanzen samt Wurzelballen aus den Töpfen gestoßen und die Wurzeln mittels eines scharfen Wasserstrahles oder auch nur durch Abspülen in einem großen, wassergefüllten Gefäß von den anhaftenden Substratteilen befreit. Daraufhin ging die Auswertung der Ergebnisse folgendermaßen vor sich: Festlegung des Befallsbildes im Protokoll so weit möglich und in einigen charakteristischen Fällen photographische Aufnahmen, Wägung der abgeschnittenen oberirdischen Pflanzenteile zuerst jeder Pflanze einzeln, dann sämtlicher Pflanzen aus einer Reihe zusammen. In den tabellarischen Wiedergaben

über die Auswertung der einzelnen Versuche stellt die jeweils aus den vorgenommenen erstgenannten Einzelwägungen ermittelte Zahl das Mittel dar. Infolge der durch die benutzte Infektionsmethode erzielten Gleichmäßigkeit war es in keinem Falle notwendig, außer der Durchschnittszahl noch Minima oder Maxima anzugeben, da diese durchweg nur innerhalb der Fehlergrenzen abwichen. Der in verschiedenen Versuchen oft sehr erhebliche Unterschied des Gewichtes der gleichen Anzahl von Pflanzen derselben Art gegenüber einem anderen Versuch röhrt von der unterschiedlichen Dauer der Versuche her und von der Jahreszeit, in der sie gemacht wurden. Für die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist dies jedoch ohne Belang, da ja die mengenmäßigen Resultate zweier Versuche auch aus einer Reihe anderer Gründe niemals miteinander verglichen werden könnten, sondern jeder Versuch seine Bewertung nur in sich selbst finden kann, soweit es sich um meßbare oder gemessene Ergebnisse handelt.

An dieser Stelle muß noch betont werden, daß die „Randwirkung“ bei sämtlichen Versuchen ausgeschaltet wurde, nachdem sich gleich zu Anfang eine wesentliche Beeinträchtigung der Resultate durch diese erwiesen hatte. Die Außenreihen der auf den Tabletten im Gewächshaus aufgestellten Topfvierecke wurden deshalb zwar in derselben Weise vorbereitet und behandelt, aber nicht in die Auswertung einbezogen. Durch diese Maßnahme ging naturgemäß Platz verloren, und es war eine größere Zahl Töpfe notwendig, aber im Interesse einer exakten Versuchsanordnung war diese Maßnahme unumgänglich. Auch wurden die Töpfe ein und derselben Versuchsreihe nicht etwa auch in einer Reihe auf den Gewächshaustischen aufgestellt, sondern kreuz und quer durcheinander.

Alle im folgenden dargestellten Versuche sind mindestens einmal, verschiedene sogar zweimal wiederholt worden. Allerdings war die Wiederholung aus Raummangel nicht zur gleichen Zeit möglich. Gewertet wurde stets nur der zweite bzw. dritte Versuch, sofern er durch Vergleich der Protokolle dieselben relativen Resultate geliefert hatte wie der vorhergehende.

Erwähnt sei noch, daß in den Fällen, in denen Befall der Versuchspflanzen durch andere Krankheitserreger (*Colletotrichum*, *Botrytis*, weiße Fliege, Blattläuse) beobachtet wurde, eine sofortige Bekämpfung in den ersten Anfangsstadien der Erkrankung erfolgte. Gelang diese nicht sofort restlos, so wurde der Versuch abgebrochen.

## I. Versuche über den Einfluß von Umweltbedingungen.

### Allgemeines.

Die Auswahl der zur Untersuchung gelangten Umweltfaktoren in ihrer Wirkung auf Befall durch *Thielavia basicola* und Verlauf der Erkrankung geschah unter Berücksichtigung der Versuchsmöglichkeiten im Bonner Institut für Pflanzenkrankheiten und auch unter Berücksichtigung

der von anderen Autoren über diese Fragen schon durchgeführten Untersuchungen. So blieb der Faktor der Bodenazidität in meinen Untersuchungen außer Betracht, da über dieses Thema eingehende Untersuchungen einer Reihe von Autoren vorliegen. Die Ergebnisse der einzelnen Forscher seien hier kurz besprochen.

Aus dem Jahre 1908 liegt eine Beobachtung von Briggs (8) (cit. bei Johnson) vor, wonach Schäden durch *Thielavia* besonders dort stark in Erscheinung traten, wo der Boden durch Kalken alkalisch gemacht wurde. Die Benutzung saurer Düngemittel dämmte die Schäden ein. 1919 veröffentlichten dann Johnson und Hartman (27) ihre Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Umweltbedingungen, unter anderen auch der Bodenreaktion. Sie fanden ebenfalls Zunahme der Befallsintensität mit steigendem pH-Wert des Bodens. 1926—1928 erschienen verschiedene Arbeiten von Anderson, Doran, Morgan und Osmun (2; 3; 4; 19; 20; 35). Diese Forscher haben in außerordentlich genauen Untersuchungen eine kritische Zone der Bodenreaktion bei pH 5,6—5,9 sowohl in Topf- als auch in Feldversuchen und -beobachtungen festgestellt. Über-einstimmend berichten diese Forscher auch über die Schwankung dieser kritischen Zone mit der Bodentemperatur. Darnach liegt der Punkt der pH-Skala, unterhalb dessen eine nennenswerte Infektion nicht mehr eintritt, bei einer Temperatur von etwa 15° C bei pH 5,4—5,5 und bei einer Temperatur von ca. 27—28° bei pH 5,9—6,0. Es ergibt sich also eine sehr deutliche Abhängigkeit der Infektion von der Reaktion des Substrates.

Demgegenüber fanden Schaffnit und Meyer-Hermann (45) keine Abhängigkeit des Befalls von der Bodenreaktion, vielmehr war in ihren Untersuchungen der Befall bei den verschiedenen pH-Werten des Substrates gleichmäßig. Dieser Gegensatz zu den obenerwähnten Resultaten der amerikanischen Forscher erklärt sich wohl dadurch, daß Schaffnit und Meyer-Hermann einen Pilzstamm benutzt haben, der nach meinen Untersuchungen sehr wenig infektiös war, während die amerikanischen Forscher, wie fast immer in ihren Versuchen, natürlich verseuchten Boden mit, wie meine Untersuchungen ebenfalls zeigten, sehr virulenten Stämmen des Pilzes angewandt haben.

In der obengenannten Arbeit (27) untersuchten Johnson und Hartman neben dem Einfluß der Bodenreaktion noch eine Reihe anderer Umweltbedingungen, sowohl in Gefäß- wie in Feldversuchen. Wie schon eingangs erwähnt, vermutet Sorauf (47) in seiner Arbeit über die „Wurzelbräune der Cyclamen“, daß besondere Umstände notwendig seien, um *Thielavia basicola* parasitär werden zu lassen. Peglion (37), Campbell (12), Buttaro (10 und 11), Benincasa (6), Cappelluti-Altomare (13), Galloway (23), Aderhold (1), Clinton und Jenkins (15, 16 und 17), Briggs (8), Gilbert (25), Chittenden (14), Valleau,

Kenney und Kinney (51), Roodenburg (41), Diddens (18), Tiddens (50) und andere Autoren berichten teils aus Beobachtungen, teils aus eigenen Versuchen über verschiedene Umwelteinflüsse und deren Zusammenhang mit der Erkrankung verschiedener Pflanzen durch *Thielavia*. Die Berichte dieser Forscher sollen später, jeweils zusammen mit meinen eigenen Versuchen besprochen werden.

Verschiedene Beobachtungen haben schon vor Jahren der Vermutung Raum gegeben, daß man in *Thielavia basicola* einen sogenannten Schwächeparasiten vor sich habe. Die an früherer Stelle beschriebenen Versuche zeigten trotz ihres z. T. negativen Verlaufes, daß ein „Schwächeparasitismus“ hier nicht vorliegen kann. Die mannigfachen Äußerungen verschiedener Autoren über diese Frage müssen daher wohl so formuliert werden, daß bestimmte äußere oder innere Bedingungen zwar sehr wesentlich beeinflussend auf Infektion und Krankheitsverlauf wirken, nicht aber Voraussetzung dafür sind.

Der Begriff „Schwächeparasitismus“ würde ja besagen, daß bestimmte Bedingungen seitens des Wirtes oder seitens des Pilzes nicht nur etwa den Befallsgrad und die Krankheitserscheinung zu verstärken, sondern überhaupt erst hervorzurufen geeignet wären. Gerade das Beispiel der *Thielavia* zeigt deutlich, wie vorsichtig man mit der Aufstellung eines solchen Begriffes sein müßte. Soweit bis jetzt Beobachtungen aus Deutschland vorliegen, konnte man allerdings Bezeichnungen wie „Schwächeparasit“ oder „Gelegenheitsparasit“ wegen der geringen oder nur sporadischen Pathogenität unseres Pilzes anwenden.

Überblickt man aber das ganze Verbreitungsgebiet dieses so außerordentlich plurivoren Pilzes, so ändert sich das Bild mit einem Schlag ganz bedeutend, und man wird angesichts der sehr starken Pathogenität des Parasiten in anderen Ländern zu ganz anderen Schlußfolgerungen hinsichtlich des Parasitismus von *Thielavia* kommen müssen.

#### **Einfluß der Bodenfeuchtigkeit.**

Es liegen zu dieser Frage eine ganze Anzahl beiläufiger Beobachtungen sowie auch einige experimentelle Untersuchungen aus der Literatur vor, die mit ziemlicher Übereinstimmung steigenden Befall und Zunahme der Heftigkeit der Erkrankung mit steigendem Wassergehalt des Bodens bzw. mit steigender Menge der Niederschläge zeigen. Wir haben aber trotzdem zu der Frage neue Versuche unternommen, und zwar aus folgendem Grunde: Wie eingangs bereits erwähnt, wurden die mit *Thielavia* ausgeführten experimentellen Arbeiten amerikanischer Forscher immer nur unter Anwendung von natürlich verseuchter Erde durchgeführt. Ich habe auch schon die Einwände dargelegt, die gegen eine derartige Methode zu erheben sind. Um diesen zu begegnen, wurden die Versuche ebenso wie jene der übrigen Versuchsreihen durch künstliche Impfung des Substrates mit Reinkulturen ausgeführt.

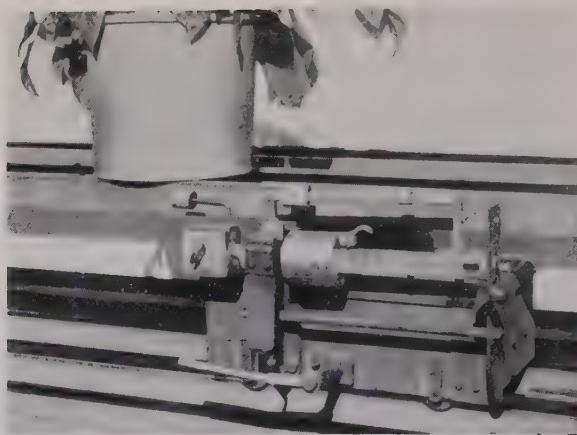


Abb. 3.

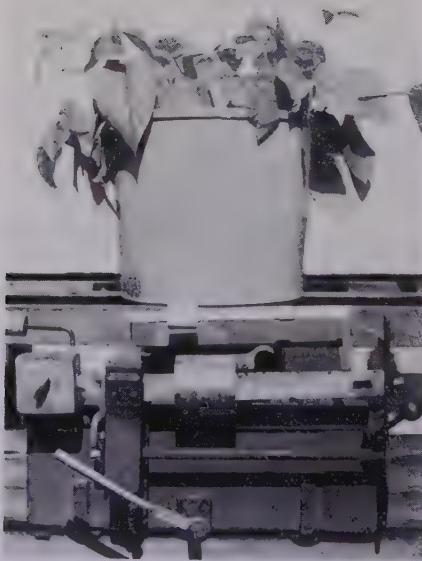


Abb. 4.

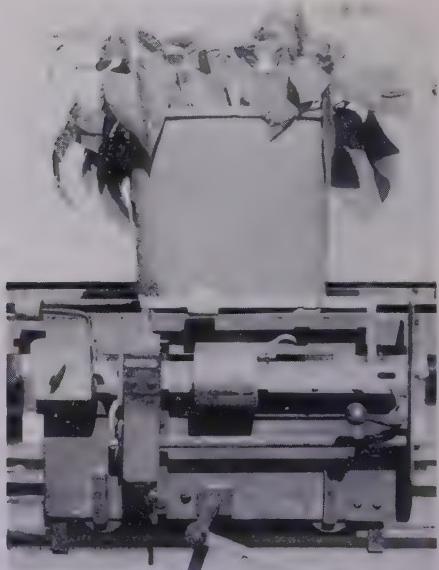


Abb. 5.

Abb. 3 bis 5 Wägeeinrichtungen für Vegetationsgefäße nach Prof. Schaffnit.

- Abb. 3. Stellschienen für die Vegetationsgefäße. Darunter die Waage auf den Laufschienen.
- Abb. 4. Waage in Ruhestellung. Der Topf steht auf den Stellschienen auf.
- Abb. 5. Waage in Wägestellung. Der Topf ist durch Drehen des unten vorn sichtbaren Hebels auf die Tragplatte der Waage gehoben bzw. diese ist gehoben und der Topf dadurch ein wenig aus seiner Ruhestellung emporgedrückt worden.

Die Versuche wurden in glasierten, mit einer besonderen Durchlüftungseinrichtung versehenen Vegetationsgefäß en angesetzt. Nach Ausstarierung der Gefäß e mit Kies auf 7 kg erfolgte Auffüllung mit gedüngetem Sand-Torf-Gemisch auf 16 kg. Der Wassergehalt des Gemisches war jeweils kurz vorher bestimmt worden; desgleichen das Wasserfassungsvermögen, das zu 300 g Wasser je kg Sand-Torf-Gemisch gefunden wurde. Darnach geschah die Berechnung der Wassermenge, die je Gefäß zugegeben werden mußte, um die vorgesehenen Stufen von 30, 60 und 90% der Wasserkapazität zu erreichen. Nach der Bepflanzung fanden die Gefäß e im Gewächshaus Aufstellung und wurden bis zum Anwachsen der Pflanzen auf 60% der Wasserkapazität gehalten.

Die besondere Konstruktion und Art der Aufstellung der Vegetationsgefäß e im Gewächshaus gestattet auf verhältnismäßig einfache Weise und ohne allzu großen Zeitaufwand die Wägung der Töpfe. Die Tische haben keine Platten, sondern die Stellfläche für die Gefäß e wird durch zwei parallel laufende L-Schienen gebildet, deren Entfernung voneinander etwas weniger als der Außendurchmesser der Gefäß e beträgt. Dadurch wird bewirkt, daß die Töpfe nur mit dem Rand auf den Schienen aufsitzen. Unter diesem oberen Schienenpaar verläuft ein zweites Paar L-Schienen, auf welchen eine auf Rollen montierte Waage bewegt werden kann. Die Tragplatte dieser Wage kann mittelst eines Hebels so hoch gestellt werden, daß der Topf etwas von seiner Schienen-Unterlage emporgehoben wird und frei auf die Tragplatte der Waage zu stehen kommt. Auf diese Weise können die Gefäß e rasch hintereinander gewogen und jeweils wieder durch Zusatz des verdunsteten Wassers auf das errechnete Gewicht gebracht werden (s. Abb. 3—5).

Erst wenn die Pflanzen angewachsen waren, wurde mit der Einstellung der verschiedenen Feuchtigkeitsgrade begonnen. Wägung und Wasserergänzung erfolgte gewöhnlich morgens und abends, an sehr heißen Tagen ein drittesmal in den Mittagsstunden.

Die Versuchspflanzen waren: Bohnen (Sorte „Wachs-Dattel“) und Tabak (*N. tabacum*, Sorte „U-Stamm“, Forchheim).

Tabelle 1.  
Bohnen: Befallsbilder nach 21 Tagen Versuchsdauer.

Stufe der Wasser- kapazität %	Befall an			Färbung der befallenen Partien	Bildung von Wurzel- knöllchen
	Wurzelhals		Wurzeln		
	Striche	Flecke			
30	2—3 mm lang, 1 mm breit	keine	gering	rötlichbraun	gering
60	6—8 mm lang 2—3 mm breit	klein	mittelmäßig	braun bis dunkelbraun	gering
90	keine verfließend	groß	stark	schwarzbraun	normal

Tabelle 2.  
Bohnen: Frischgewichte der oberirdischen Teile von je 10 Pflanzen.

Stufe der Wasserkapazität %	Kontrollpflanzen g	Befallene Pflanzen g
30	110	100
60	240	170
90	270	160

Für Tabak ergab sich nach 49 Tagen hinsichtlich des Befallsbildes dieselbe ansteigende Reihe in Bezug auf die Größe der infizierten Fläche an Wurzeln und Wurzelhals mit steigender Bodenfeuchtigkeit. Das Befallsbild war insofern von dem bei Bohnen verschieden, als sich keine Strich-, sondern nur Flecken-Bildung zeigte.

Tabelle 3.  
Tabak: Frischgewichte der oberirdischen Teile von je 8 Pflanzen.

Stufe der Wasserkapazität %	Kontrollpflanzen g	Befallene Pflanzen g
30	1100	990
60	1310	990
90	1270	860

Bei beiden Pflanzenarten, Bohnen und Tabak, zeigt sich stärkster Befall und höchste Schädigung bei höchster Bodenfeuchtigkeit. Für Bohnen liegt das Wachstumsoptimum offenbar bei sehr hoher, für Tabak bei niedrigerer Bodenfeuchtigkeit. Das hatte zur Folge, daß im obigen Versuch Tabak in der höchsten Stufe schon durch den Faktor Feuchtigkeit gehemmt war. Trotzdem bewirkt aber auch hier der Faktor Pilzinfektion stärkste Beeinträchtigung des Wuchses, was ja bei Tabak als direktes Maß der Schädigung angesehen werden kann.

Der Grad der Erkrankung und somit die Höhe der Schadwirkung ist nach diesen Versuchen direkt proportional der Feuchtigkeitsmenge im Boden.

Die einzigen experimentellen Untersuchungen über den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit im Zusammenhang mit dem Parasitismus von *Thielavia basicola* haben unseres Wissens Johnson und Hartman (27) durchgeführt. Diese Forscher fanden ebenfalls, daß der Unterschied zwischen befallenen und gesunden Tabakpflanzen in der höchsten Feuchtigkeitsstufe am deutlichsten in Erscheinung trat. Die Verfasser benutzten zu ihren Versuchen Erde eines notorisch verseuchten Tabakfeldes und sterilisierten diese Erde für die Kontrollpflanzen. Auch die Ergebnisse, die Gilbert (25) aus Feldversuchen mit verschiedener Feuchtigkeit zog, stimmen mit unseren Ergebnissen grundsätzlich überein. Ebenso lassen sich im Prinzip die mannigfachen beiläufigen Beobachtungen einer ganzen Anzahl von

Autoren mit den vorliegenden Versuchsergebnissen in Einklang bringen. Berichte über Beobachtungen des Einflusses der Bodenfeuchtigkeit bzw. der Niederschlagsmengen liegen unter anderen vor von: Peglion (37), Buttaro (10 und 11), Benincasa (6), Cappelluti-Altomare (13), Clinton und Jenkins (15), Chittenden (14).

### Einfluß der Temperatur.

Obwohl für absolut konstante Temperaturen nur hinsichtlich solcher bis zu etwa 12° C Versuchsmöglichkeiten gegeben waren, glaubten wir doch, insbesondere veranlaßt durch Johnson's (27) Hinweise auf die große Bedeutung, die der Temperatur in diesem Zusammenhange beizumessen ist, auf eigene Versuche nicht verzichten zu dürfen.

Zu den Versuchen mit höherer Temperatur als 12° C ist folgendes zu bemerken: In Ermangelung komplizierter Thermostaten für die Kultur höherer Pflanzen mußten die Versuche an Örtlichkeiten ausgeführt werden, in denen die Temperatur entsprechend hoch und die Temperaturschwankungen dabei möglichst gering waren. Für eine Durchschnittstemperatur von etwa 27° C stand das geschlossene und geheizte Warmhaus des Institutes zur Verfügung. In diesem Haus schwankte die Temperatur tagsüber zwischen 25° C und 28° C. Bei Nacht wurde durchgeheizt, so daß die Temperatur nicht unter 23° C sank. Für eine Durchschnittstemperatur von 21° C konnte ein großes ungeheiztes Gewächshaus benutzt werden. Hier schwankte die Tagesspanne zwischen 20° und 23° C. Nachts sank die Temperatur stärker ab. Diese Temperaturschwankungen mußten, wie erwähnt, mangels geeigneter Apparaturen in Kauf genommen werden. Daß der angestrebte Zweck, Pflanzen bei unterschiedlichen Temperaturen wachsen zu lassen und den Einfluß dieser Temperaturen auf die Infektion mit *Thielavia* zu beobachten, tatsächlich erreicht worden ist, dafür bietet die Entwicklung der Pflanzen genügend Gewähr. Die Kontrollpflanzen aus der höchsten Temperaturstufe waren im selben Zeitraum etwa doppelt so groß geworden wie die bei mittlerer Temperatur gewachsenen. Überdies beziehen sich die angegebenen Temperaturschwankungen auf die Lufttemperatur. Da für unsere Versuche aber in erster Linie, wenn nicht ausschließlich, die Bodentemperatur maßgebend ist, so durften die geringen Temperaturschwankungen als belanglos angesehen werden, weil sich solche im Boden kaum mehr bemerkbar machten.

Als Versuchsgefäße dienten Blumentöpfe, deren Vorbereitung und Bepflanzung in der üblichen Weise erfolgte. Bis zum Anwachsen der Pflanzen verblieben die Töpfe im Warmhaus und kamen dann in die drei gewählten Temperaturstufen. Diese waren:

- 25°—28° C (Warmhaus),
- 20°—23° C (ungeheiztes Gewächshaus),
- 12° C (Kühlkabine der Kälteanlage).

Als Versuchspflanzen wurden gewählt: Bohnen (Sorte „Wachsdattel“) und *Lupinus angustifolius*.

Nach 40 Tagen ergab sich für die Lupinen aus allen drei Stufen ein durchaus gleichmäßiges Bild des Befalls. Wurzeln und Wurzelhals waren sehr gleichmäßig stark befallen und tief schwarzbraun verfärbt. Eine Wägung der oberirdischen Teile der Lupinen wurde in diesem Versuch leider versäumt. Es wurde aber das Längenwachstum der einzelnen Pflanzen bestimmt. Eine Verzweigung hatte bis zum Zeitpunkt der Ernte nicht stattgefunden. Daher war die Messung des einfachen Längenwachstums ein guter Maßstab für die Hemmung und Schädigung der Pflanzen durch den Pilz, zumal diese sich in den einzelnen Reihen außerordentlich gleichmäßig ausgewirkt haben.

Tabelle 4.  
**Lupinen: Höhe der Pflanzen (Durchschnittswerte von je 9 Pflanzen).**

Temperaturstufe °C	Kontrollpflanzen cm	Befallene Pflanzen cm
25—28	29	21
20—23	32,5	20
12	13,5	10

Die Bohnen der Stufe 25°—28°C zeigten mittleren, die der Mittelstufe starken Befall an den Wurzeln und am Wurzelhals. In der niedrigsten Temperaturstufe gingen die Bohnen nach kurzer Zeit ein.

Tabelle 5.  
**Bohnen: Frischgewichte der oberirdischen Teile von je 12 Pflanzen.**

Temperaturstufe °C	Kontrollpflanzen g	Befallene Pflanzen g
25—28	280	270
20—23	130	90
12	kein Wachstum	

Wie vorauszusehen war, lag das Wachstumsoptimum für die Lupinen in der mittleren Stufe, für Bohnen in der höchsten Stufe. Während in der niedrigsten Stufe für Lupinen schon eine starke Hemmung zu konstatieren war, bedeutete diese für die Bohnen eine Unterschreitung des Wachstums-Minimums. Zieht man die beiden Temperaturen in Betracht, bei denen die Pflanzen noch verhältnismäßig gut wachsen, so zeigt sich übereinstimmend die höhere Schädigung bei der mittleren Temperatur von 20°—23°C, während die Schadwirkung bei hoher Temperatur wesentlich geringer ist.

Johnson und Hartman (27) erhielten ähnliche Resultate für Tabak. Nach diesen Autoren liegt der Maximalpunkt der Schädigung für

Tabak bei 19°—21°C. Bis 24°C fanden sie noch geringe, darüber keine Schädigung mehr. Soweit decken sich die Ergebnisse dieser Forscher mit meinen eigenen.

Anders verhält es sich hinsichtlich der Optimal-Temperatur für das Wachstum des Pilzes selbst. Hierüber findet sich bei Fischer-Gäumann (22) eine in Anlehnung an Jones (Jones L. R., The relation of environment to disease in plants, Am. Journ. Bot. 11, 1924) dargestellte Beziehung zwischen Bodentemperatur und Intensität des Befalls durch *Thielavia* an Tabak in Kurvenform. Das Ausmaß der Schädigung bzw. der Erkrankung ist darnach am größten ebenfalls zwischen zirka 18° und 24° C. Eine weitere Kurve zeigt das Pilzwachstum in Abhängigkeit von der Temperatur. Hier liegt das Optimum zwischen 28° und 32° C, und die Verfasser kommen zum Schluß, daß hier die Temperatur die Widerstandsfähigkeit des Wirtes so sehr steigert, daß bei der Temperatur des Wachstumsoptimums für den Pilz eine Erkrankung nicht mehr stattfindet.

Demgegenüber stehen unsere Beobachtungen über das Wachstum von *Thielavia* bei verschiedenen Temperaturen. Es zeigte sich, daß das Wachstumsoptimum unseres Parasiten in der Nähe von 23°C liegen muß, ja, daß der Pilz über 29°C nur noch sehr schwach wächst. Fast dieselbe Feststellung bezüglich des Optimums für den Parasiten hat auch Tiddens (50) gemacht. Er fand als Optimaltemperatur 24°—25°C. Es ist also der Schluß zu ziehen, daß der Pilz hinsichtlich seiner Wachstums-Optimaltemperatur und seiner Aggressivität nahezu eine Parallelie zeigt. Die Aggressivität scheint sonach mehr durch optimale Verhältnisse auf seiten des Pilzes, als durch wechselnde Widerstandsfähigkeit des Wirtes mit der Temperatur bedingt zu sein.

An dieser Stelle sei jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, daß eine absolut sichere Bewertung eines einzigen Umwelteinflusses kaum möglich ist, worauf auch Johnson und Hartman besonders hinweisen. Die Bewertung kann vielmehr nur relativer Art sein, da zweifellos die verschiedenen Umweltfaktoren sich gegenseitig in ihrer Wirkung stark beeinflussen, oft wohl auch gänzlich kompensieren.

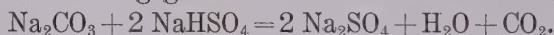
#### **Einfluß des Kohlensäuregehaltes der Luft.**

Zu den Versuchen dienten Infektionskästen von 80 Liter Inhalt. Diese Kästen, wie sie im Bonner Institut verwendet werden, bestehen aus Zinkblechrahmen mit eingekitteten Glasscheiben. Unten und oben sind sie offen und stehen in Untersätzen aus Zinkblech. Am oberen Rand befindet sich eine Rinne, in die der ebenfalls eine Glasscheibe enthaltende Überfalldeckel eingreift. Diese Rinne wird mit Wasser gefüllt gehalten und so der Kasten nach oben gasdicht abgeschlossen. In die Untersätze wird ebenfalls Wasser eingefüllt und dieses mit einer Schicht Paraffinöl bedeckt, um eine Absorption der Kohlensäure durch die große Oberfläche dieser

Wasserschicht zu vermeiden. In der oberen Rinne erwies sich eine Ölschicht als unnötig, da hier die Absorption nur ganz gering ist und überdies ein Beschädigen der Pflanzen durch abtropfendes Öl bei Abnahme des Deckels unvermeidbar gewesen wäre.

In jedem Kasten fanden vier Blumentöpfe Aufstellung, und zwar standen die Töpfe auf hohen Holzklötzen, um zu verhindern, daß sie mit der Ölschicht in Berührung kommen konnten. Ein „Klettern“ des Öls wurde dadurch vermieden, daß die Klötze vorher tagelang in Wasser gelegt worden waren.

Die Grundzüge der Begasungstechnik wurden der Arbeit von Gaßner und Straib (24) entnommen. Da die von diesen Forschern gewählte Methode für unsere Zwecke nicht ohne weiteres brauchbar war, wurde sie, wie folgt, abgewandelt. Die Entwicklung der Kohlensäure wurde durch Einwirkung einer Lösung von Natriumbisulfat auf kristallisierte Soda bewirkt. Natriumbisulfat wurde deshalb in Lösung angewandt, weil sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß die Gasentwicklung zu stürmisch war und Beschädigungen der Pflanzen durch Spritzer auftraten, wenn beide Salze in fester Form vereinigt und dann mit Wasser die Reaktion ausgelöst wurde. In den Kästen standen Gefäße, die, wie sich gezeigt hatte, möglichst groß und nicht mit verengtem Hals ausgestattet sein mußten. Im Kasten der höchsten Konzentration fanden sogar zwei Gefäße Aufstellung, die mit je der Hälfte der berechneten Menge Soda beschickt wurden. Diese Berechnung geschah mit Hilfe der Reaktionsgleichung:



Darnach entwickeln also 286 g Soda ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ ) und 284 g Natriumbisulfat 1 Mol = 22,4 Liter Kohlensäure. Daraus errechnen sich für die beabsichtigten Konzentrationen von 1; 2,5; 5; 7,5; 10%  $\text{CO}_2$  folgende Mengen Soda und Natriumbisulfat:

Tabelle 6.

Kohlensäure-Konzentration %	Soda (kristallisiert) g	Natriumbisulfat-Lösung ccm
1	10	25
2,5	25	50
5	50	100
7,5	75	150
10	100	200

Die Natriumbisulfat-Lösung enthielt in 100 ccm 60 g  $\text{NaHSO}_4$  gelöst. Etwas stärker, als nach der Rechnung nötig wäre, wurde die Bisulfatlösung deshalb gewählt, um immer einen Überschuß von Bisulfat und dadurch eine sichere Zersetzung der gesamten Sodamenge zu erreichen. Die dabei vorhandene Menge Wasser war auch ausreichend, um beide

Salze zu lösen bzw. in Lösung zu halten. In die Vorversuche waren auch noch Zwischenkonzentrationen (0,1; 0,5; 3 und 6 %) einbezogen worden, doch wurde später davon abgesehen, da bei wenig auseinanderliegenden Konzentrationen die Unterschiede im Wuchs und Schadbild der Pflanzen nicht deutlich genug in Erscheinung traten.

Nachdem die Pflanzen einige Tage bei geöffneten Kästen gestanden und angewachsen waren, setzte die Begasung ein. Frühmorgens um 5 Uhr



Abb. 6.



Abb. 7.

Abb. 6 und 7: Kontrollpflanzen. CO<sub>2</sub>-Gaben von links nach rechts:  
Mangel; 1%; 2,5%; 5%; 7,5% und 10%.

wurde die Soda, die zur Vermeidung von Verwitterungsverlusten stets frisch aus Wasser umkristallisiert worden war, in der berechneten Menge in die Gefäße gegeben. Hierauf wurde der Deckel des Kastens geschlossen. Durch ein mit Korken verschließbares Loch im Deckel konnte nun mit Hilfe eines Trichters und daran befestigtem langen Glasrohr die entsprechende Menge Bisulfat-Lösung in die Entwicklungsgefäße gegossen werden. Die Löcher im Deckel blieben noch einige Zeit geöffnet, um der verdrängten Luft Gelegenheit zum Entweichen zu geben. Dieses Offenlassen der Eingußlöcher konnte unbedenklich und ohne Verluste an Kohlensäure befürchten zu müssen, geschehen, denn die entwickelte Kohlensäure füllt die Kästen, infolge ihrer Schwere, von unten nach oben.

Es konnte durch diese tägliche, einmalige Beschickung natürlich keine konstante Gasatmosphäre erzielt werden. Die Konstanz des Versuches lag vielmehr darin, daß die Pflanzen täglich einem Gaseinfluß ausgesetzt waren, der frühmorgens zur Zeit der stärksten Assimilationstätigkeit mit derselben Konzentration begann und tagsüber in derselben Kurve abnahm.

Neben den Stufen mit verschiedenem Kohlensäuregehalt der Atmosphäre wurde noch eine Stufe mit Kohlensäuremangel eingeschaltet. Diese erzeugten wir durch Einstellen von Gefäßen mit einer konzentrierten Lösung von Natronlauge.

Die Versuchspflanzen waren Tabak und Bohnen (Sorte „Wachsdattel“). Da für diesen Versuch eine Tabaksorte verwandt wurde, die, wie sich leider zu spät herausstellte, fast immun war, traten an Tabak nur unwesentlicher Befall und ganz minimale Schädigungen auf. Trotzdem wurde eine Konzentrationsreihe im Bild festgehalten und kann hier als sehr guter Maßstab für die Wirkung der einzelnen Stufen auf das Wachstum überhaupt dienen (s. Abb. 6 und 7).

Der Bohnenversuch wurde nach 41 Tagen geerntet. Die Wirkungen der Kohlensäure allein an den Kontrollpflanzen sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Eine Auswertung des Befallsbildes an Wurzeln und Wurzelhals war auch in diesem Versuch unmöglich, da alle Stufen stark und nahezu gleichmäßig befallen erschienen. Die Frischgewichte der oberirdischen Teile von je 12 Pflanzen sind aus der Tabelle 8 ersichtlich. Das Gewicht von 12 Pflanzen erscheint hier besonders hoch gegenüber dem von etwa derselben Zahl Pflanzen eines anderen Versuches. Dies hat seinen Grund darin, daß die Pflanzen in den Infektionskästen infolge der Versuchsanordnungen sehr vorteilhafte Bedingungen hinsichtlich Temperatur und Feuchtigkeit fanden und sich somit sehr gut entwickelten.

Tabelle 7.

## Bohnen:

## Einwirkungen der Kohlensäure-Begasung auf die Kontrollreihe der Bohnen.

Kohlensäure-Konzentration %	Wachstum	Färbung der Blätter	Bildung von Nekrosen
Mangel	stark gehemmt	gelb—gelbgrün	keine
1	normal	tief dunkelgrün	keine
2,5	stark gefördert	dunkelgrün	keine
5	stark gefördert	dunkelgrün	keine
7,5	gehemmt	gelbgrün	kleine Nekrosen
10	sehr stark gehemmt	gelb	zahlreiche, gr. nekr. Flecke

Die düngende und wachstumsfördernde Wirkung der Kohlensäure bei geeigneter Konzentration tritt sehr deutlich in Erscheinung und deckt sich mit den entsprechenden Beobachtungen von Gaßner und Straib

(24) bei ihren Rostinfektionsversuchen. Es ist klar, daß den Lichtverhältnissen bei derartigen Versuchen eine wesentliche Bedeutung zukommt, und es kann aus obigen Versuchsergebnissen nicht ohne weiteres ein für alle Verhältnisse gültiges günstiges bzw. schädliches Maß an Kohlensäuregehalt der Atmosphäre für eine bestimmte Pflanzenart herausgelesen werden. Es sollte ja auch nicht der Zweck dieser Untersuchungen sein, optimale oder minimale Bedingungen festzulegen oder auch nur zu schaffen. Vielmehr war beabsichtigt, möglichst alle extremen Stadien zu erzielen und in Zusammenhang und in Wechselbeziehung zwischen Pilz, Pflanze und Umwelt zu betrachten. Trotzdem soll auch auf diese rein botanisch-physiologischen Ergebnisse hingewiesen sein. Fischer (21), der die düngende Wirkung einer Kohlensäurebegasung und die dadurch bedingte Ertragssteigerung an einer ganzen Reihe von Pflanzen studiert hat, kommt zu dem Schluß, daß der Kohlensäurebegasung nicht nur im Gewächshaus, sondern auch, unter günstigen Umständen, in der Freilandkultur, wesentliche Beachtung zu schenken sei. Vor allem das Ergebnis unserer Tabakversuche gibt uns Veranlassung, dem durchaus beizupflichten.

Tabelle 8.

## Bohnen: Frischgewichte der oberirdischen Teile von je 12 Pflanzen.

Kohlensäure-Konzentration %	Kontrollpflanzen		Befallene Pflanzen
		g	g
Mangel		240	200
1		430	205
2,5		470	180
5		440	150
7,5		200	150
10		170	135

Diesen Versuch möchten wir in dem Sinne werten, daß *Thielavia basicola* kein sogenannter „Schwächeparasit“ sein kann. Denn die Stufen der größten Wuchshemmung zeigen durchaus nicht auch die höchste Schädigung durch den Pilz. Vielmehr liegt diese etwas oberhalb des Wachstumsoptimums der Pflanze, bezogen auf die Kohlensäurekonzentration, nämlich bei 5%. Dann folgen nacheinander: 2,5%; 1%; 7,5%; 10% und Kohlensäure-Mangel. (Vergl. hierzu Abb. 8—10.)

In den Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß Kohlensäure-Mangel und eine Art Normalstufe nur ganz geringfügige Unterschiede im Schadbild aufweisen. Die „Normalstufe“ wurde dadurch bewirkt, daß sonst unbehandelte Kästen für die Dauer der täglichen Versuchs-Maßnahmen geöffnet wurden. Obwohl natürlich selbst in einem gänzlich unbehandelten Infektionskasten keinesfalls von normalen Luftverhältnissen die Rede sein kann, ist es doch, nach obigem, mit gewissen Einschränkungen möglich, die Mangelstufe als eine Art Kontrollstufe für den ganzen Versuch anzu-

sprechen. Dies gilt umso mehr, als die nicht zu umgehende Art der Versuchsanordnung zwar an sich optimale, aber doch sehr unnatürliche Wachstumsbedingungen für die Pflanzen bot. Obige „Normalstufe“ also gab die einzige Möglichkeit eines Vergleichs mit wenigstens annähernd



Abb. 8.



Abb. 9.



Abb. 10.

Abb. 8 bis 10: Je 1 Kontrollpflanze (links) und 1 befallene Pflanze (rechts) aus jeder Reihe der Kohlensäurebegasungsstufen.

normalen Bedingungen. Darnach ist dann ein bedeutender Einfluß des Kohlensäuregehaltes der Atmosphäre auf den Krankheitsverlauf ganz fraglos gegeben.

Man muß hier auch in Betracht ziehen, daß zwei Umweltfaktoren sich unter allen Umständen noch zusätzlich geltend machen, nämlich die durch den allseitigen Abschluß der Infektionskästen bedingte erhöhte Temperatur, deren Ansteigen im Sommer im Kasten oft sehr bemerkenswert war (an heißen Tagen bis zu 35° C), und die stets sehr hohe Boden- und Luftfeuchtigkeit innerhalb der Kästen. Beide Faktoren wirken erfahrungs-gemäß auf das Wachstum der Bohne günstig ein. Dagegen stehen sie sich in ihrer Wirkung auf die Erkrankung der Pflanzen entgegen. Hohe Temperatur dämmt, wie wir gesehen haben, die Krankheit ein, hohe Feuchtigkeit befördert sie. Es muß also zwischen diesen beiden Faktoren eine mehr oder minder ausgeprägte Kompensation der Wirkungen stattfinden. Die Einflüsse, die sich hier auswirken, konnten natürlich im Rahmen der oben dargelegten Versuche nicht untersucht werden. Es dürfte überhaupt außerordentlich schwierig sein, mehrere Umwelteinflüsse gleichzeitig, zumal mit entgegengesetzten Auswirkungen auf die Erkrankung, einwandfrei experimentell zu untersuchen.

Wenn man den Versuch macht, die zusätzlichen Umweltbedingungen in die Betrachtung der Ergebnisse in diesem Fall einzubeziehen, so müßte man eigentlich zuerst den Umweltfaktor Licht nennen. Zweifellos kommt dem Licht in diesen Untersuchungen eine besondere Bedeutung zu, wie an anderer Stelle dieses Abschnitts schon angedeutet wurde. Die Tatsache, daß die Schadbilder sehr scharf für die jeweiligen Kohlensäurekonzentrationen differenziert sind, gibt der Annahme Raum, daß in diesem Fall Assimilationstätigkeit und Erkrankung in engem Zusammenhang stehen und also auch das Licht an diesem Zusammenhang beteiligt ist. Wenn trotz dieser Überlegung der Faktor Licht nicht an erster Stelle genannt wird, so deshalb, weil die Folgen eines Lichtmangels, wie sie später gezeigt werden, in keiner Form in Erscheinung traten. Die Frage nach dem Einfluß verschiedener Umweltbedingungen nebeneinander wird also immer komplizierter.

Zieht man diese Probleme mit in Betracht, so könnte leicht das Ergebnis eines derartigen Versuchs überhaupt in Frage gestellt erscheinen. Daß dies nicht der Fall ist, zeigt folgende Überlegung: Hätten die drei genannten zusätzlichen Umwelteinflüsse (Feuchtigkeit, Temperatur, Licht) den zu prüfenden Einfluß des Kohlensäuregehaltes zu überdecken und damit das Versuchsergebnis zu verwischen vermocht, so wäre es nicht möglich gewesen, je nach Kohlensäure-Konzentration differenzierte Schadbilder zu messen, denn unsere drei zusätzlichen Faktoren waren ja nicht variiert worden, sondern konnten auf alle Reihen gleichmäßig ihren Einfluß ausüben. Somit können auch die unterschiedlichen Schädigungen

der Versuchspflanzen nur von dem variierten Umweltfaktor, nämlich der Konzentration der Kohlensäure herrühren.

Wenn wir auf der einen Seite annehmen, daß verschiedener Gehalt der Atmosphäre an Kohlensäure die Empfänglichkeit der Wirtspflanze beeinflußt, so muß doch zu denken geben, daß der Maximalpunkt der Schadwirkung gerade bei 5% CO<sub>2</sub>-Konzentration liegt. Man sollte viel eher vermuten, daß das Höchstmaß an Schaden an den Stellen in Erscheinung tritt, an denen durch anormale atmosphärische Verhältnisse der Kohlehydratstoffwechsel am meisten zu Ungunsten der Pflanze verschoben ist. Es ist also stark zu vermuten, daß von wesentlicher Bedeutung für den Krankheitsverlauf der Einfluß der Kohlensäurekonzentration auf das Wachstum und die Aggressivität des Pilzes selbst ist.

Untersuchungen über den Einfluß einer Kohlensäureatmosphäre auf das Pilzwachstum sind in Aussicht genommen und z. T. schon begonnen worden. Über die Resultate läßt sich leider bis jetzt Bestimmtes noch nicht aussagen. Es soll daher in einer späteren Mitteilung davon die Rede sein.

#### **Einfluß des Lichtes.**

Über den Einfluß des Lichtes wurden Versuche mit drei verschiedenen Abdunkelungsstufen gegenüber vollem Lichtgenuß durchgeführt. Die Töpfe standen zu je neun auf Lattenrosten, die auf den im Abschnitt über den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit beschriebenen L-Schienen im Gewächshaus auflagen. Zur Erzielung verschiedener Lichtintensitäten dienten große, mit Gaze bespannte Lattengestelle. Die Lichtdurchlässigkeit dieser Hauben wurde durch die Dichte und Farbe des verwendeten Abschirmungsstoffes folgendermaßen reguliert:

Stufe 1: Eine Lage weißer und eine Lage schwarzer Gaze.

Stufe 2: Zwei Lagen weißer Gaze.

Stufe 3: Eine Lage weißer Gaze.

Stufe 4: Ohne Bedeckung.

Um unter den Hauben etwa auftretendem Kohlensäuremangel entgegenzuwirken, wurde unter dem Lattenrost ein Ventilator angebracht, der täglich für mehrere Stunden die Luft unter den Hauben bewegte.

Als Versuchspflanzen sind gewählt worden: Tabak (Sorte „Geudertheimer“) und Bohnen (Sorte „Wachs-Dattel“).

Die Bedeckung mit den Hauben geschah nicht sofort nach Bepflanzung der Töpfe, sondern einige Tage später, nachdem die Pflanzen angewachsen waren.

Zu dem in Tabelle 9 wiedergegebenen Resultat der Versuchsreihe mit Tabak ist folgendes zu bemerken: Da die Pflanzen in Stufe 4 ohne Bedeckung frei im Gewächshaus gestanden hatten, war viel häufigeres Gießen notwendig gewesen. Dadurch ist offenbar der lösliche Stickstoff

Tabelle 9.  
Tabak: Schadbilder nach 38 Tagen.

Ab- dunkelungs- Stufe	Kontrollpflanzen			Befallene Pflanzen		
	Wurzel- bildung	Blattfarbe	Höhe cm	Befall	Blattfarbe	Höhe cm
1	sehr gering	hellgrün	7	sehr stark	Pflanzen zer- stört	—
2	gering	grün	8–10	mittel stark	grün	8–10
3	normal	dunkelgrün	21	gering	dunkelgrün	21
4	stark	gelbgrün	12	stark	gelbgrün	10

stark aus dem Substrat ausgewaschen worden, und die Pflanzen zeigten daher deutliche Stickstoffmangel-Erscheinungen, nämlich sehr starke Wurzelbildung und gelbe bis gelbgrüne Färbung der Blätter. Außerdem war ihr Wuchs sehr gedrungen, und es drückte sich deutlich eine Schädigung der infizierten Pflanzen gegenüber den gesunden Kontrollen aus. Die Pflanzen der Stufe 1 lassen erkennen, daß größter Lichtmangel zusammen mit Pilzinfektion völlige Zerstörung der Pflanzen bewirkt. Dagegen war in den beiden dazwischenliegenden Stufen mittlerer und geringer Abdunkelung keinerlei Unterschied zwischen infizierten und Kontrollpflanzen zu erkennen. Diese beiden Stufen lieferten also trotz Anwesenheit des Pilzes bessere Erträge als die Stufe 4. Wenn auch der Faktor Stickstoffmangel in dieser Stufe zweifellos beeinflussend auf den Befall gewirkt hat, so kann dennoch das Resultat in die Betrachtung des Versuchs einbezogen werden, da sich in vielen Fällen gezeigt hat, daß die gewählte Tabaksorte unter normalen Bedingungen keineswegs als hochresistent gegen unseren Parasiten gelten kann. Das will besagen, daß man nach dem Ergebnis von Stufe 2 und 3 nicht auf eine allgemeine Widerstandsfähigkeit der Sorte schließen und den Befall bzw. die deutliche Schädigung in Stufe 4 nicht lediglich auf den Einfluß des Stickstoffmangels zurückführen kann.

Vielmehr muß angenommen werden, daß geringer bis mittlerer Lichtmangel die Widerstandsfähigkeit der Tabakpflanzen so bedeutend erhöht hat, daß eine Schädigung nicht mehr in Erscheinung trat, obwohl sich die Pflanzen deutlich befallen zeigten. Es muß auch diese Erhöhung der Widerstandsfähigkeit absoluter Natur sein und kann nicht etwa in einer Störung des Kohlehydratstoffwechsels, bedingt durch Mangel an Licht, begründet sein. Denn Stufe 1 dieses und die Stufen 1, 2 und 3 des nächsten Versuches mit Bohnen geben ja deutlich zu erkennen, daß starke Störungen dieses Stoffwechsels den Pilz in höchstem Maße zum Befall und zur Schädigung der Pflanze befähigen. Störungen der Assimilationstätigkeit treten überdies bei Tabak erst bei sehr starker Abdunkelung zutage, wenigstens insoweit, als man von der Ausbildung des Blattgrüns hierauf schließen darf.

Die folgende Tabelle 10 gibt das Ergebnis eines weiteren Versuches mit Bohne als Versuchspflanze wieder. Auf eine Messung bzw. Wägung wurde hierbei verzichtet, da die photographischen Aufnahmen in diesem Fall ein klareres Bild ergeben als Zahlen, die zudem infolge der mäßigen Entwicklung der Bohnen kleine und damit undeutliche Werte geliefert hätten (Abb. 11 u. 12).

Tabelle 10.  
Bohnen: Entwicklung und Befall nach 31 Tagen.

Ab-dunkelungs-Stufe	Kontrollpflanzen (Etiolierungsgrad)	Befallene Pflanzen
1	stark	völlig zerstört
2	mittel stark	nahezu völlig zerstört
3	gering	stark geschädigt
4	0	deutlich gehemmt



Verdunkelungsstufe 1

Verdunkelungsstufe 2

Abb. 11.



Verdunkelungsstufe 3

Kontrollstufe 4

Abb. 12.

Abb. 11 und 12. Lichtmangel-Versuch mit Bohnen.  
Jeweils links befallene, rechts Kontrollpflanzen.

Bei Bohnen ist also die Schädigung um so größer, je weniger Licht die Pflanzen erhalten. Die Schädigung kann sich hier sogar bis zur völligen Zerstörung der Pflanze steigern. Wie ersichtlich, ist die Bohne gegen Lichtmangel bedeutend empfindlicher als Tabak. Konnte sich bei diesem die schon erwähnte Erhöhung der Resistenz feststellen lassen, so ist hier eher das Gegenteil der Fall. Die Bohnenpflanzen werden durch den Lichtentzug derartig geschwächt, daß dem Parasiten eine im Verhältnis zu normalen Bedingungen (Stufe 4) ganz enorme Schädigung der Pflanze ermöglicht wird. Wir sind der Auffassung, daß hier die Disposition des Pilzes keine oder doch nur eine untergeordnete Rolle spielt, daß also das Infektionsergebnis durch die gesteigerte Empfänglichkeit des Wirtes und nicht durch eine optimal gesteigerte Aggressivität des Parasiten hervorgerufen wird.

Zu dieser Ansicht veranlassen uns Beobachtungen des Pilzwachstums, der Sporenbildung und -größe und der Keimfähigkeit an Rein-Kulturen, die bei verschiedenen Lichtintensitäten bis zur völligen Dunkelheit gezogen worden waren. Nach diesen Beobachtungen scheint das Licht keinerlei Einfluß auf den Pilz selbst auszuüben. Zu untersuchen ist allerdings in diesem Zusammenhang noch die Frage, ob der Pilz, wenn er lange Zeit im Dunkeln oder bei Lichtmangel kultiviert wird, seine Aggressivität verliert. Jedoch könnte das Resultat eines derartigen Versuches nicht ohne weiteres auf obige Überlegungen angewendet werden, da die Aggressivität unseres Parasiten schon durch die künstliche Kultur überhaupt sehr stark beeinflußt wird.

Es ist bei einem solchen Bodenparasiten auch viel eher anzunehmen, daß er gerade vom Faktor Licht am wenigsten abhängig ist.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich *Thielavia* hinsichtlich des Einflusses der Lichtintensität auf das parasitologische Verhältnis entgegengesetzt verhält wie ein obligater Parasit, z. B. ein Rost (siehe Fischer u. Gäumann (22), S. 62 ff.). Während sich für diesen allgemein die Lebensverhältnisse verschlechtern, wenn diese für die Wirtspflanze ungünstig sind und sich im vorliegenden Falle unter Lichtmangel eine hohe Widerstandsfähigkeit oder gar Immunität ausbilden würde, sind die Verhältnisse für unseren Parasiten im allgemeinen umgekehrt. Je ungünstiger das Wachstum des Wirtes aus Gründen starken Lichtmangels ist, um so günstiger gestaltet sich die Lage für den Pilz hinsichtlich seines parasitischen Verhältnisses zum Wirt.

#### **Einfluß der Ernährung der Wirtspflanze.**

Durch umfangreiche, im Bonner Institut für Pflanzenkrankheiten durchgeföhrte Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen verschieden ernährten Pflanzen und ihren Parasiten ist diese Frage für eine Reihe von Pilzen grundsätzlich geklärt worden. Wurzelparasiten wur-

den in den Kreis dieser Untersuchungen bislang nicht einbezogen, wie solche überhaupt für Versuchszwecke in dieser Richtung seither nur in geringem Umfange herangezogen worden sind.

Für die nachstehenden Versuche gelangten dieselben Vegetationsgefäße wie für die Versuche über Bodenfeuchtigkeit zur Anwendung. Die Gefäße wurden nach gründlicher Waschung mit Kies austariert und mit Sand-Torf-Mischung auf 16 kg aufgefüllt. Die Tabelle 11 gibt die gewählten Ernährungsstufen sowie die hierfür aufgewendeten Nährösungsmengen wieder. Unter den Buchstaben K, P und N sind folgende Salze und unter den Lösungen solche von folgend angegebener Konzentration verstanden:

K = KCl (158 g Salz mit Wasser zu 1 Liter gelöst),

P = CaH<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (164 g Salz mit Wasser zu 1 Liter gelöst),

N = NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (287 g Salz mit Wasser zu 1 Liter gelöst).

Überschuß eines Nährstoffes wird im folgenden immer durch Anhängen eines Plus-Zeichens an das chemische Zeichen abgekürzt. Also z. B. Kali-Überschuß = K+. Entsprechend erfolgt die Abkürzung für Kalimangel = K—.

Tabelle 11.  
Nährösungsmengen je Gefäß für die einzelnen Ernährungsstufen.

Ernährungsstufe	K ccm	P ccm	N ccm
Normal	10	10	10
K +	20	10	10
K —	—	10	10
P +	10	20	10
P —	10	1	10
N +	10	10	20
N —	10	10	1

Die abgemessene Menge Nährlösung wurde mit Wasser auf etwa ein Liter verdünnt, oben in die Gefäße gegossen und zur guten Verteilung, insbesondere der Phosphorsäure, der Gefäßinhalt mit einem Holzstab tüchtig durchgemischt. Nach 2—3 tägigem Stehen erfolgte die Bepflanzung der Vegetationsgefäße. Während der Dauer der Versuche betrug die Bodenfeuchtigkeit aller Stufen etwa 60 % der Wasserkapazität, was in derselben Weise, wie bei den Feuchtigkeitsversuchen geschildert, durch tägliche Wägung und Wasserergänzung reguliert wurde. Die Anzucht bzw. Vorkeimung der Versuchspflanzen geschah für diese Versuche in ungedüngtem Sand-Torf-Gemisch.

Die Versuchspflanzen waren: Bohnen (Sorte „Wachs-Dattel“) und Lupinen (*L. angustifolius*).

Das Befallsbild der Wurzeln und des Wurzelhalses lieferte bei der Ernte wiederum so wenig deutlich erfassbare Unterscheidungsmerkmale,

daß auf seine Wiedergabe verzichtet wird. Die Auswertung der Versuchsergebnisse geschah vielmehr in der schon mehrfach erläuterten Form der Wägung. Die betreffenden Zahlen für Bohnen sind aus Tabelle 12, die für Lupinen aus Tabelle 13 ersichtlich.

Tabelle 12.  
**Bohnen: Frischgewichte der oberirdischen Teile  
von je 10 Pflanzen nach 44 Tagen.**

Ernährungsstufe	Kontrollpflanzen	Befallene Pflanzen
	g	g
Normal	360	290
K +	360	260
K -	200	200
P +	390	360
P -	80	75
N +	280	165
N -	250	145

Tabelle 13.  
**Lupinen: Frischgewichte der oberirdischen Teile  
von je 9 Pflanzen nach 61 Tagen.**

Ernährungsstufe	Kontrollpflanzen	Befallene Pflanzen
	g	g
Normal	200	125
K +	200	110
K -	100	95
P +	225	195
P -	15	15
N +	110	90
N -	60	55

Ein Blick auf die Kontrollreihen beider Pflanzenarten zeigt klar, daß die Absicht, eine möglichst deutliche Auswirkung der Ernährung auf das Pflanzenwachstum zu erreichen, sehr genau verwirklicht werden konnte. Den weitestgehenden Einfluß auf die Entwicklung übt nach diesen Versuchen bei beiden Pflanzenarten übereinstimmend die Phosphorsäure aus. Sie zeigt an den Kontrollen einerseits das höchste Erntegewicht bei Überschuß und andererseits das niedrigste bei Mangel. Kali- und Stickstoffmangel wirken naturgemäß entsprechend gewichtsmindernd. Kaliüberschuß bewirkt keine Ertragsvermehrung und Stickstoffüberschuß sogar eine wesentliche Minderung des Erntegewichtes. Klar läßt sich auch erkennen, daß die Lupinen bedeutend feiner auf Nährstoffmangel reagieren als die Bohnen.

Die Gewichtsminderung durch Erkrankung ist in beiden Versuchen am geringsten bei den Kali- und Phosphorsäure-Mangel-Pflanzen. Die höchste Schädigung zeigt keine so deutliche Übereinstimmung zwischen den beiden Wirtspflanzen. Bohnen leiden am stärksten unter der Krank-

heit, wenn sie mit Stickstoff überdüngt sind, etwas weniger, wenn Stickstoffmangel und Kaliumüberschüß vorliegt. Die Lupinen verhalten sich, wie gesagt, etwas anders. Sie leiden am meisten bei Kaliumüberschüß; daran schließt sich Normalernährung an. Phosphorsäureüberschüß hält zwischen beiden Extremen ungefähr die Mitte.

Direkt vergleichbare Resultate anderer Forscher liegen über *Thielavia basicola* in diesem Zusammenhang nicht vor. Es scheint, daß mit diesem Pilz bislang überhaupt keine solchen Versuche zur Durchführung gelangten.

Schaffnit und Volk (43 und 44) kamen auf Grund ihrer Untersuchungen über die Empfänglichkeit verschieden ernährter Pflanzen für eine ganze Reihe von allerdings durchweg oberirdischen Parasiten zu Ergebnissen, die sich zum Teil sehr gut mit meinen Resultaten decken, zum andern Teil aber auch nicht unerheblich von diesen abweichen. Grundsätzlich muß bei einem derartigen Vergleich der Ergebnisse folgendes bedacht werden: Die genannten Forscher hatten bei allen ihren Versuchen die Möglichkeit, die Infektion und das Befallsbild direkt zu verfolgen bzw. zu bestimmen. Diese Möglichkeit besteht für den hier untersuchten Wurzelparasiten, wie eingangs dargelegt wurde, nicht oder nur in sehr geringem Maße. Es mußte hier vielmehr der Weg der indirekten Messung der Pilzinfektion in der durchgeführten Weise beschritten werden.

Schaffnit und Volk fanden als am wenigsten anfällig für Parasitenbefall Stickstoff- und Phosphorsäure-Mangelpflanzen. Lupinen zeigten sich auch in meinen Versuchen bei mangelnder Stickstoffzufuhr sehr wenig durch die Infektion geschädigt, während mit geringen Stickstoffgaben ernährte Bohnen sehr stark geschädigt wurden. Als sehr anfällig erwiesen sich in den Versuchen der genannten Autoren Stickstoffüberschüß- und Kalimangelpflanzen. Das erstere stimmt wiederum gut mit meinen Ergebnissen überein. Kalimangelpflanzen dagegen waren in meinen Versuchen auffallenderweise überhaupt nicht merklich geschädigt.

Wie ist überhaupt der gezeigte Einfluß der Ernährung der Pflanzen auf den Erkrankungs- bzw. Schädigungsgrad zu erklären? Man muß auch hier wie in allen derartigen Versuchen zunächst die Vorbedingungen sowohl auf Seiten des Wirtes wie auf Seiten des Parasiten suchen. In unserem Falle dürften allerdings die Vorbedingungen für das Zustandekommen der jeweiligen Schädigung fast vollständig auf Seiten des Wirtes zu suchen sein. Eine wesentliche Beeinflussung der Aggressivität des Pilzes durch verschiedene Mengen der im Boden vorhandenen anorganischen Nährstoffe ist nicht anzunehmen, weil nach unseren Beobachtungen der Pilz in der künstlichen Kultur ausgesprochen omnivoren Charakter zeigt. Höchstens der mit verschiedenem Salzgehalt des Substrates natürlich variierenden Bodenreaktion könnte eine solche Beein-

flussung der Aggressivität des Pilzes zugeschrieben werden, da dieser, wie anderen Ortes erwähnt, sehr ausgeprägt auf die Azidität bzw. Alkalität des Substrates reagiert. Dies dürfte aber gegenüber dem wesentlichen Einfluß, den unterschiedliche Ernährung auf die ganze Konstitution und damit auf die Empfänglichkeit der Pflanze mit Bestimmtheit ausübt, von nur untergeordneter Bedeutung sein.

Wenn wir also die Vorbedingungen für das Schadmaß und für die Erkrankung in der Hauptsache bei der Wirtspflanze suchen wollen und müssen, so muß bei Betrachtung der Tabellen 12 und 13 ein Moment besonders auffallen: Die Schädigung ist immer dann am geringsten, wenn infolge Fehlens optimaler Ernährungsbedingungen (übrigens gilt dies auch für einige andere Umweltbedingungen) nur kümmerliches Wachstum der Pflanzen eintritt. Es muß also angenommen werden, daß auf solchen Pflanzen dem Pilz auch nur eine kümmerliche Entwicklung möglich ist. Hierbei wird die Ausbildung der Epidermis, die Größe der Zellen, das Verhältnis von Plasma zu Zellsaft, die Größe der Interzellularen usw. eine bedeutsame Rolle spielen. Denn gerade diese Züge im anatomischen Bau der Pflanze werden durch die Ernährung weitgehend beeinflußt, und so wird dem Parasiten das Eindringen in den Wirt und die Ausbreitung im Gewebe desselben erschwert oder erleichtert. Ähnlich verhält es sich mit den physiologischen Veränderungen, die die Pflanze durch verschiedene Ernährung erfährt. Auch hier wird der Schaden, den der Parasit seinem Wirt zufügen kann, davon abhängen, ob der Pilz ausreichende und entsprechende Nährstoffe, Feuchtigkeitsmengen usw. in der Pflanze vorfindet.

Da eigene Untersuchungen über die anatomischen und physiologischen Auswirkungen verschiedener Ernährung auf die Pflanze nicht unternommen worden sind, sei auf die Arbeiten von Schaffnit und Volk verwiesen.

#### **Einfluß einer Schwächung der Pflanzen.**

Nach beiläufigen Beobachtungen verschiedener Forscher soll die Adventivwurzelbildung bei Tabak im Zusammenhang mit der Erkrankung durch *Thielavia basicola* eine Rolle spielen. Wir müssen bei Tabak und auch bei anderen Wirtspflanzen unseres Parasiten, die im Saatbeet vorgezogen und dann aufs Feld ausgepflanzt werden, zwischen zwei Möglichkeiten der Erkrankung unterscheiden. Einmal werden, dies ist besonders bei Tabak sehr häufig der Fall, die jungen Sämlinge durch im Boden des Mistbeetes vorhandene *Thielavia* befallen. Zum anderen werden die Pflanzen nach dem Auspflanzen aufs Feld entweder zusätzlich zu dem aus dem Saatbeet mitgebrachten Befall durch auf dem Feld vorhandenen Pilz infiziert, oder sie erkranken überhaupt erst auf dem Feld, sofern das Saatbeet frei von *Thielavia* war oder der Pilz durch entsprechende Bodendesinfektion unschädlich gemacht wurde.

Unsere Betrachtung bezieht sich in erster Linie auf die zweite Möglichkeit. Hier wurde nun mehrfach, u. a. von Johnson (26), beobachtet, daß die Pflanzen nach dem Auspflanzen zwar erkrankten und Wachstumsstockungen zeigten, daß sie aber, sofern die Bedingungen hierfür günstig waren, durch Adventivwurzelbildung sich von der Krankheit mehr oder weniger zu erholen vermögen. Die Adventivwurzeln wurden weniger oder auch oft überhaupt nicht mehr vom Pilz befallen und hatten überdies durch Vordringen in größere Bodentiefen die Möglichkeit, sich der Wirkungssphäre des Pilzes zu entziehen. Exakte Versuche scheinen indessen darüber nicht gemacht worden zu sein. Wir haben daher diese Frage zu klären versucht.

Hierzu war nötig, die Pflanzen bzw. deren Wurzeln vor der in unseren anderen Versuchen üblichen Behandlung zu schwächen bzw. zu schädigen. Dies wurde durch folgende Vorbehandlungsweisen erreicht:

Stufe 1: Wurzeln 3 Minuten in Wasser von 50° C getaucht

„	2:	5	“	“	“	50° C	“
„	3:	10	“	“	Alkohol von 80%	“	“
„	4:	15	“	“	“	80%	“
„	5:	20	“	“	“	80%	“
„	6:	“	unbehandelt, aber Blätter fortwährend entfernt, so daß die Pflanzen jeweils nur ein ausgebildetes Blatt trugen				

„ 7: Ganz ohne Vorbehandlung (Kontrolle).

Als Versuchspflanzen wurden Bohnen (Sorte „Wachs-Dattel“) gewählt.

Nach 52 Tagen wurde der Versuch geerntet. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Regeneration der Wurzeln bei einigen Reihen schon so deutlich eingesetzt, daß der Versuch als beendet angesehen werden konnte. Es wurde die Regeneration der Wurzeln festgestellt und das Frischgewicht von je neun Pflanzen ermittelt. Das Ergebnis ist in Tabelle 14 wiedergegeben.

Tabelle 14.

**Bohnen: Regeneration der Wurzeln und Frischgewichte von je 9 Pflanzen.**

Stufe	Kontrollpflanzen		Befallene Pflanzen	
	Regeneration	Gewicht g	Regeneration	Gewicht g
1	gut	90	gut	75
2	gering	65	sehr gering	5
3	gut	90	gering	45
4	mittelmäßig	70	sehr gering	15
5	gut	90	mittelmäßig	50
6	—	70	—	45
7	—	120	—	90

Der Versuch wurde im Herbst durchgeführt, daher erklärt sich das verhältnismäßig niedrige Frischgewicht der Pflanzen trotz der langen

Versuchsdauer. Um ein Faulen der z. T. stark geschwächten Pflanzenwurzeln zu vermeiden, wurden die Gefäße nicht in Untersätze mit Wasser gestellt, sondern je nach Bedarf begossen.

Der Versuch zeigt die stärkste Schädigung bei einem Zusammenwirken von künstlicher Schwächung (Warmwasserbehandlung der Wurzeln während fünf Minuten) und Befall durch den Pilz in Stufe 2. Eine Warmwasserbehandlung von nur drei Minuten ermöglicht der Pflanze trotz deutlicher Schwächung eine verhältnismäßig gute Überwindung der Krankheit durch Bildung von Adventivwurzeln, die zum Zeitpunkt der Ernte kaum einen Befall zeigten, während die älteren Wurzeln und der Wurzelhals stark befallen erschienen.

Ein eigenartiges Ergebnis lieferten die Stufen 3—5 (Alkoholbehandlung der Wurzeln). Hier muß man beim Vergleich der Kontrollen aus den drei Stufen unter sich wie beim Vergleich der befallenen Pflanzen einen Wettkampf einerseits zwischen schädigender und stimulierender Wirkung des Alkohols und andererseits einen Wettkampf zwischen Pilz und Adventivwurzelbildung annehmen.

Allgemein läßt sich folgendes sagen: Hat die Pflanze genügend Zeit oder noch genügend Kraft zu neuer Wurzelbildung, so wird die Schädigung durch den Pilz wesentlich herabgesetzt. Ist sie dagegen durch die Behandlung schon sehr geschwächt, aber an sich, wie die entsprechenden Kontrollen dartun, noch durchaus lebensfähig und imstande, sich wieder zu erholen, so gibt ihr der Pilz mehr oder weniger den Rest.

Dieser Versuch erweist mit großer Deutlichkeit die Abhängigkeit des Maßes an Schädigung von einer Schwächung der Pflanze. Die normale Reihe (Stufe 7) dagegen zeigt wiederum, daß zu einem Befall oder einer Schädigung überhaupt kein dem Gesundheitszustand abträglicher Umwelteinfluß nötig ist, es sei denn, man wollte die Tatsache, daß die Bohnen verpflanzt wurden und in Töpfen im Gewächshaus gewachsen sind, schon als in diesem Sinne unnatürlich bezeichnen. Selbstverständlich ist es unnatürlich, Bohnen in Töpfen zu ziehen und zu verpflanzen, aber abgesehen davon, daß bei solchem Einwand unsere ganze Versuchstechnik zu bemängeln wäre, kann man diesem Einwand sofort entgegenhalten, daß Verpflanzen (Tabak) und Kultur in Töpfen (Cyclamen und Veilchen) für eine Reihe der wichtigsten Wirtspflanzen von *Thielavia* die übliche und einzige mögliche Form der Kultur darstellt und somit sogar solche Verhältnisse beim Studium gerade dieses Parasiten zugrunde gelegt werden müssen.

#### **Einfluß verschiedener Bodenarten.**

Anregung zu Untersuchungen über diese Frage gaben die Beobachtungen und die Ansicht fast aller Forscher über *Thielavia basicola*, daß ein

hoher Gehalt an Humus die Krankheit begünstige oder überhaupt erst ermögliche, da der Pilz eine Zeit lang als Saprophyt leben müsse, um die Befähigung zum Angriff auf die Pflanze zu erhalten (Campbell, Buttarro, Benincasa, Galloway u. a.). Dementsprechend glaubte Massee (32 u. 33) die Beobachtung gemacht zu haben, daß der Pilz in reinem Sand nicht infizieren könne. Johnson und Hartman (27) dagegen fanden bei ihren Untersuchungen, daß der Gehalt des Bodens an organischen Bestandteilen keine große Rolle spielt, daß im Gegenteil in reinem Sand eine Infektion rascher erfolgt.

Um diese Widersprüche in der Literatur zu klären, wurden entsprechende Versuche unternommen. Die zur Verwendung gelangten Bodenarten waren folgende:

W.S. = Weißer Quarzsand, völlig steril und wie üblich gedüngt.

S.T. = Sand-Torf, die zu den meisten Versuchen angewandte Mischung aus Grubensand und Torf, ebenfalls wie üblich gedüngt.

S.T.(st.) = Dasselbe, im Autoclaven sterilisiert.

K. = Komposterde.

K.(st.) = Komposterde, im Autoclaven sterilisiert.

E. = Gartenerde (Löß-Lehm).

E.(st.) = Gartenerde, im Autoclaven sterilisiert.

Als Versuchspflanzen wurden Bohnen (Sorte „Wachs-Dattel“) und Tabak (Sorte „Havanna III“, Forchheim) benutzt.

Bei der Ernte erfolgte Feststellung der Entwicklung der Pflanzen, Bestimmung des Frischgewichtes und bei Bohnen Untersuchung auf Ausbildung von Wurzelknöllchen. Die Resultate sind für Bohnen in Tabelle 15, für Tabak in Tabelle 16 wiedergegeben.

Tabelle 15.

**Bohnen: Entwicklung der Pflanzen; Ausbildung der Wurzelknöllchen und Frischgewichte von je 9 Pflanzen.**

Bodenart	Entwicklung der Pflanzen	Ausbildung der Wurzelknöllchen	Kontroll-Pflanzen g	Befallene Pflanzen g
W. S.	mittelmäßig	keine	105	35
S. T.	mittelmäßig	normal	105	60
K.	gut	normal	170	110
K. (st.)	sehr gut	keine	220	70
E.	gut	normal	130	100
E. (st.)	gut	keine	150	90

Übereinstimmend ist bei beiden Wirtspflanzen die Schädigung in sterilisierter Komposterde und in sterilisiertem Sand-Torf-Gemisch bzw. in Quarzsand am größten. Sterilisation bewirkt offensichtlich einerseits Verbesserung des Wachstums und andererseits bedeutende Zunahme der Schadwirkung durch den Pilz. Die erstgenannte Erscheinung ist wohl

Tabelle 16.

Tabak: Entwicklung der Pflanzen und Frischgewichte von je 9 Pflanzen.

Bodenart	Entwicklung der Pflanzen	Kontroll-	Befallene
		Pflanzen g	Pflanzen g
S. T.	mittelmäßig	100	75
S. T. (st.)	mittelmäßig	105	50
E.	mittelmäßig	85	55
E. (st.)	gut	100	40
K.	gut	165	80
K. (st.)	sehr gut	175	35

damit zu erklären, daß durch die Sterilisation im Autoclaven die Eiweißstoffe der Organismen sowie Humusstoffe in aufnehmbaren Stickstoff übergeführt werden, der dann natürlich das Wachstum, vor allem die Entwicklung der Blatt- und Stengelmasse fördern muß.

Die starke Zunahme des Schadens durch Pilzbefall in sterilisierten Substraten kann nur so ausgelegt werden, daß in diesen Fällen die gesamte Pilz- und Bakterienkonkurrenz im Boden ausgeschaltet ist und *Thielavia* das Feld allein beherrscht. Dasselbe ist natürlich der Fall in reinem Sand. Auch hier besteht für den Pilz hinsichtlich seines Parasitismus keinerlei Konkurrenz.

Die Versuche bestätigen also die von Johnson und Hartman vertretene Auffassung, daß keineswegs nur in Anwesenheit von organischen Bestandteilen im Boden Infektionen stattfinden können. Vielmehr zeigen unsere Versuche in reinstem Sand sehr starken Befall und starke Schädigung. Es muß bedacht werden, daß es für den Pilz ein Mehr an Energieaufwand bedeutet, zur parasitischen Lebensweise überzugehen, und daß solch ein Übergang nur in Ermangelung einer anderen Lebensmöglichkeit geschieht. In Sand hat der Pilz nur ganz geringe Mengen organischer Substanz als Nährstoffquelle zur Verfügung, um saprophytisch leben zu können, und es bleibt ihm gar keine andere Wahl als die, auf die lebende Pflanze überzugehen, da diese die alleinige Lebensmöglichkeit für ihn bedeutet.

Wir erblicken in diesen beiden Momenten, Pilz- und Bakterienkonkurrenz und Gehalt bzw. Mangel an humosen Stoffen für saprophytische Ernährung, den Haupteinfluß verschiedener Böden auf die Infektion und den Krankheitsverlauf, hervorgerufen durch *Thielavia basicola*. Wenn dagegen Johnson und Hartman die Ursachen für unterschiedlichen Befall in verschiedenen Böden hauptsächlich in der Bodentemperatur sehen, so können wir dieser Auffassung nur teilweise beipflichten. Gewiß bedingt die Lagerung der Bodenpartikelchen in den verschiedenen Bodenarten eine unterschiedliche Wärmeleitung und Wärmehaltung, deren Einfluß sich selbstverständlich sowohl für das Wachstum der Pflanze wie für

die Entwicklung des Parasiten bemerkbar machen muß. Es ist aber zu bedenken, daß mit dem Wechsel der physikalischen Struktur auch eine Änderung der Wasserführung und -haltung verknüpft ist, und wir sehen gerade darin im Zusammenhang mit obigem ein besonders wichtiges Moment.

In der Hauptsache suchen wir jedoch die Erklärung für das verschiedene Verhalten der Böden, natürlich im Zusammenwirken mit den beiden eben besprochenen Faktoren, in dem Gehalt des Bodens an humosen Stoffen bzw. in deren Nichtvorhandensein.

Die eingangs genannte Ansicht vieler Forscher, nämlich das Vorhandensein organischer Bestandteile im Boden als Voraussetzung für eine Infektion oder zum mindesten als wesentlich fördernden Faktor für das Zustandekommen einer solchen, steht gerade dem entgegen, was unsere Versuche mit aller wünschenswerten Deutlichkeit zu erkennen geben.

Meine Beobachtung, daß fast alle Kompost- und ähnlichen Erden *Thielavia* enthalten, und die auch aus dem Gesagten deutlich werdende Tatsache, daß der Pilz sich vor allem in humosen Böden saprophytisch halten kann, gibt vermutlich die Erklärung für die Beobachtungen so vieler Autoren, denn es ist klar, daß der Pilz vor allem dort auftreten und beobachtet werden wird, wo er sich überhaupt nur aufhalten kann. Da exakte Untersuchungen zu dieser Frage, wie gesagt, nicht vorliegen und es sich lediglich um Beobachtungen handelt, liegt die Annahme nahe, daß es sich hier um aus Beobachtungen über das Vorkommen gezogene Schlüsse handelt, die über die Infektionsbedingungen von *Thielavia* nichts aussagen können. Wenn weiter viele Forscher gleichzeitig mit ihren Beobachtungen genannter Art feststellen, daß *Thielavia basicola* ein harmloser Parasit sei, so steht dies durchaus in Einklang mit unserer oben dargetanen Auffassung, nach der der Pilz bei der Möglichkeit saprophytischer Lebensweise in bedeutend geringerem Maße infizieren wird als ohne die Möglichkeit einer solchen.

Allerdings sei hierzu aus dem zweiten Teil der vorliegenden Untersuchungen schon vorausgeschickt, daß Pilzherkünften aus verschiedenen Gegenden verschiedene parasitische Befähigung zukommt, daß sich *Thielavia* in biologisch zu unterscheidende Unterarten aufspaltet, deren Entstehung vermutlich mit den hier angeschnittenen Fragen in Zusammenhang steht. Man könnte sich leicht vorstellen, daß ein Pilzstamm, der lange Zeit saprophytisch lebte, erst nach ebenfalls längerer Zeit die Kraft für eine stark parasitische Lebensweise aufbringen wird. Und umgekehrt könnte man sich denken, daß der Pilzstamm, der durch irgend welche Verhältnisse zur parasitischen Lebensweise gezwungen wurde, zwar nicht die Befähigung zur saprophytischen, für ihn ja einfacheren Lebensweise verloren zu haben braucht, wohl aber an seiner erworbenen parasitisch betonten Lebensart mit mehr oder minder großer Zähigkeit festhalten wird.

So wenig Mühe es macht, sich diese Möglichkeiten einer Entstehung biologisch und gegebenenfalls auch physiologisch unterscheidbarer Rassen oder Unterarten vorzustellen, so schwierig wird es sein, solche Fragen im Experiment zu beantworten.

## II. Untersuchungen über die Aufspaltung von *Thielavia basicola* in biologische Rassen bzw. biologische Unterarten.

Diese Frage, die uns gleich bei den ersten Vorversuchen (siehe dort) von außerordentlicher Bedeutung erschien, und der wir nach unseren Beobachtungen neben den verschiedensten Umweltbedingungen einen bedeutsamen Einfluß auf das parasitologische Verhalten unseres Pilzes zuschreiben müssen, haben die meisten Forscher, die sich mit *Thielavia* beschäftigt haben, angeschnitten. In der überwiegenden Mehrzahl sind diese Forscher jedoch dazu gekommen, die Frage nach dem Bestehen biologisch unterscheidbarer Unterformen für *Thielavia* zu verneinen.

Johnson und Hartman, die sich besonders eingehend mit *Thielavia basicola* befaßt haben, gelangten zu der Auffassung, daß sowohl nach der Literatur wie auch nach ihren eigenen Beobachtungen nichts dafür spreche, daß spezialisierte Rassen von *Thielavia* bestehen, oder daß der Pilz in irgend welcher Weise in seiner Virulenz schwanke, etwa infolge seiner Abstammung (gemeint ist wohl von verschiedenen Pflanzen oder verschiedenen Orten) oder infolge des Alters der Kulturen. Es sei vielmehr mit Sicherheit zu sagen, daß man es mit einem verhältnismäßig konstanten Organismus hinsichtlich seiner pathogenen Wirkung zu tun habe. Kletschetoff (cit. bei Harmanna Diddens, 18), der eine Reihe Infektionsversuche vorgenommen hat, kommt zu einem ähnlichen Ergebnis. Ebenso Rosenbaum (42), der den Pilz von drei verschiedenen Wirtspflanzen (Ginseng, Tabak und Baumwolle) isoliert und Messungen der Konidien, Chlamydosporen und des Mycels vorgenommen hat.

Peters (39) glaubt dagegen zwei verschiedene biologische Rassen bei *Thielavia* nachgewiesen zu haben. Das biologische Unterscheidungsmerkmal dieser Rassen ist nach Peters folgendes: Ein von *Lupinus angustifolius* isolierter Pilzstamm befiehl *Lupinus albus* nicht, ein anderer Pilzstamm dagegen befiehl alle von Peters untersuchten Lupinenarten (*L. albus*, *angustifolius*, *mutabilis*, *luteus* und *pilosus*). Es würde sich also nicht um zwei biologische Rassen, sondern um zwei biologische Unterarten handeln, denn sie sind ja nicht für verschiedene Lupinensorten, sondern für verschiedene Lupinenarten verschieden aggressiv. Soweit würden sich die Befunde Peters' mit den unsrigen decken. Nun ist aber *Lupinus albus* nach unseren Ergebnissen eine sehr resistente Pflanzenart für *Thielavia basicola*. Ferner hat Peters als Maßstab für den Befall und damit auch für das Kriterium seiner Rassen die Auswertung des Befallsbildes gewählt. Wie wir im Kapitel Versuchsmethodik dargelegt haben,

und wie unsere Versuche immer wieder gezeigt haben, muß man bei *Thielavia* mit der Bewertung des Befallsbildes als Maßstab für die Infektion sehr vorsichtig sein. Wenn der genannte Forscher außerdem häufig bei 100 prozentiger Impfung nicht ebenfalls einen 100 prozentigen Befall erhielt, so zeigt dies, daß seine Impfmethode als nicht völlig einwandfrei bezeichnet werden muß. Wenn also in den Versuchen Peters' ein Teil der sonst anfälligen Pflanzen trotz Impfung keinen Befall aufwies, so muß man annehmen, daß das Befallsbild der anderen infizierten Pflanzen kein so gleichmäßiges sein konnte, um daraus einwandfrei einen Maßstab für die Aggressivität des betreffenden Stammes abzuleiten. Vielmehr mußte die Absorption der Impfflüssigkeit durch den Boden (oder was man sonst als Ursache für den Nichtbefall eines Teiles der geimpften Pflanzen ansehen will) graduell verschieden und somit auch der Befall der infizierten Pflanzen unterschiedlich sein.

Wenn hier die Einwände gegen eine solche Versuchsmethodik etwas breit dargelegt wurden, so deshalb, um zu zeigen, aus welchen Gründen wir zu der von uns benutzten Impf- und Auswertungsmethode gelangten. In allen im folgenden dargestellten Versuchen gelangte die schon im Kapitel Versuchsmethodik beschriebene Impfmethode zur Anwendung. Bei der Auswertung der Versuche wurde das Hauptgewicht auf die gesamte pathogene Wirkung gelegt, die verschiedene Pilzstämme gegenüber verschiedenen Wirtspflanzen haben. Aus den oben dargelegten Gründen wurde auf die Darstellung des Befallsbildes verzichtet, obgleich dasselbe auf Grund der exakten Versuchsmethodik durchaus der pathogenen Wirkung eines Stammes entsprechend war. In den Tabellen finden sich lediglich die Frischgewichte der geernteten Wirtspflanzen angegeben.

Da sich in unseren Vorversuchen ein durchaus unterschiedliches Verhalten der beiden dort untersuchten Pilzstämme gegenüber zwei Wirtspflanzenarten ergeben hatte, mußte zunächst eine Prüfung auf biologische Unterarten erfolgen. Eine Prüfung auf eine noch weitergehende Aufspaltung in biologische Rassen war zwar vorgesehen, erübrigte sich aber im Verlauf der Versuche deshalb, weil sich keinerlei Anhaltspunkte für das Bestehen weiter differenzierter Formen ergaben. Stark virulente Pilzstämme verhielten sich allen untersuchten Sorten von Wirtspflanzen gegenüber gleichermaßen stark virulent. Entsprechend verhielten sich schwächer und ganz schwach virulente Stämme.

Es standen im ganzen acht Pilzstämme folgender Herkunft zur Verfügung:

Stamm O: Seit 1928 im Bonner Institut künstlich kultiviert.

Stamm A: Seit 1931 von Prof. Johnson in Wisconsin künstlich kultiviert. Isoliert von *Nicotiana tabacum*.

Stamm G: Seit 1926 in Baarn künstlich kultiviert.

- Stamm D: Seit 1930 in Baarn künstlich kultiviert. Isoliert von *Primula obconica*.
- Stamm J: Seit 1932 in Baarn künstlich kultiviert. Isoliert von *Nicotiana tabacum*.
- Stamm P: Seit 1932 in Bonn kultiviert. Isoliert von *Cyclamen*.
- Stamm W: Seit 1933 in Bonn kultiviert. Isoliert von Bohnen.
- Stamm T: Seit 1932 in Bonn kultiviert. Isoliert von Bohnen (*Phaseolus multiflorus*).

Die Stämme P, W und T wurden nur an der lebenden Pflanze (Bohnen) kultiviert und erst zu den Versuchen isoliert und in Kartoffelsaft vermehrt.

Alle Versuche wurden im Laufe des Jahres 1933 ausgeführt. Die Stämme O, G, D, J und A wurden in einzelnen Versuchen aus künstlicher Kultur und in anderen dazu noch nach Passage der lebenden Pflanze (Bohnen) und vorgenommener Re-Isolation angewendet. Im letzteren Fall erhielten die Stämme die Bezeichnung OO, GG, DD, JJ und AA. Es sollte mit dieser Maßnahme untersucht werden, ob und wie weit die Stämme durch die künstliche Kultur „degeneriert“ waren, d. h. ihre Virulenz verloren hatten und inwieweit diese durch längere Kultur auf der lebenden Pflanze (während acht Monaten) wieder aktiviert werden konnte.

Die Isolierung des Pilzes von der Wirtspflanze geschah über die Konidien, nachdem sich die Isolation über die Chlamydosporen als sehr schwierig erwiesen hatte. Die Konidien, die an Wurzeln der Wirtspflanzen nie gefunden werden konnten, bildeten sich leicht und in großen Mengen, wenn die Wurzeln nach gründlicher Waschung in Leitungswasser einige Tage in einer feuchten Kammer gelegen hatten. Diese Konidien sind rasch zur Keimung zu bringen und eignen sich daher besser zur Gewinnung von Reinkulturen als die Chlamydosporen. Letztere bedürfen einer längeren Reife- und Ruheperiode, bis sie zur Keimung befähigt werden, infolgedessen liegt in viel höherem Maße die Gefahr der Fremdinfektion bei der Anlage von Reinkulturen vor. Die Konidien wurden mit der Impfnadel in derselben Weise, wie dies Peters (39) beschreibt, von den befallenen Wurzeln abgenommen und zunächst auf Kartoffelstückchen übergeimpft. Durch mehrmaliges Überimpfen in kurzen Zeiträumen ließen sich daraus dann leicht Reinkulturen gewinnen.

Als Versuchspflanzen wurden Tabak, Bohne und Lupine gewählt. Die für sämtliche Versuche der vorliegenden Abhandlung verwandten Tabaksorten wurden mir liebenswürdigerweise vom Tabakforschungsinstitut in Forchheim überlassen. Die Bohnensorten stammen von der Firma Benary in Erfurt. Die Lupinenarten erhielt ich durch freundlichste Vermittlung von Herrn Professor Baur aus dem Institut für Züchtungsforschung in Müncheberg.

Es ist natürlich für derartige Versuche eine unerlässliche Vorbedingung, reine Sorten und Linien der Wirtspflanzen zu benutzen. Erwähnt sei auch, daß die Töpfe, in denen die Versuche durchgeführt worden sind, während der Dauer des jeweiligen Versuchs in stets mit Wasser gefüllten Untersätzen aus Zinkblech standen.

Nachstehend sind sämtliche Sorten und Arten von Wirtspflanzen sowie die Pilzstämme, die in diesen Versuchen verwendet wurden, aufgeführt. Später erfolgt die Angabe der Art oder Sorte oder des Pilzstammes der Übersichtlichkeit halber in Form der nachstehenden Abkürzungen:

#### Tabak-Sorten.

- Sorte 1: Geudertheimer II/a/1/m/10/d/1.
- Sorte 2: Havana III 3/c/1/a/1.
- Sorte 3: Amersfoorter I/5/i 2/f 1.
- Sorte 4: Goundie VII/1/d'4 a.
- Sorte 5: Calcar II/6/b 1.c 1.
- Sorte 6: U-Stamm III/6/d/1/a/1.
- Sorte 7: Friedrichstaler I/a 3/h 3'c/1.

#### Bohnen-Sorten.

- Sorte 1: Wachs-Mont-d'or.
- Sorte 3: Zucker-Brech Hinrichs Riesen o. F.
- Sorte 5: Zucker-Perl Tausend für Eine.
- Sorte 9: Schlachtschwert.
- Sorte 11: Wachs-Dattel.

#### Lupinen-Arten.

- Art 1: *Lupinus albus*.
- Art 2: *Lupinus angustifolius*.
- Art 3: *Lupinus luteus*.
- Art 4: *Lupinus mutabilis*.

Da für die Virulenz der *Thielavia*-Stämme die Zeitdauer der saprophytischen künstlichen Kultur eine gewisse Rolle spielt, und da ferner die infolge künstlicher Kultur gesunkene Virulenz durch Passage einer lebenden Pflanze wieder gehoben werden konnte, sind die diesbezüglichen Daten der verschiedenen Pilzstämme, berechnet auf das Jahr 1933, in welchem sie geprüft wurden, in Tabelle 17 angegeben.

Die nachstehend aufgeführten Versuche sollen zunächst einmal den Beweis erbringen, daß Pilzherkünfte aus verschiedenen Gegenden verschieden virulent sind und daß sich auf Grund dieser Erscheinungen biologische Unterarten von *Thielavia* abgrenzen lassen. Über die Natur und vor allem über die Entstehungsweise dieser biologischen Unterarten können und wollen diese Versuche nichts aussagen. Die Frage, ob beispielsweise ein sich zum Zeitpunkt der Untersuchung gegen Tabak avirulent

verhaltender Stamm durch fortdauernde Kultur zusammen mit Tabak für diesen virulent bzw. aggressiv wird, kann erst durch Beobachtungen, die sich über längere Zeiträume erstrecken, unter Umständen beantwortet werden. Solche und andere Fragen aus diesen Zusammenhängen werden nach Abschluß der zur Zeit noch in Gang befindlichen Untersuchungen in einer gesonderten Mitteilung behandelt werden. Dort wird dann auch über das Ergebnis der Untersuchungen weiterer inzwischen gewonnener Pilzherkünfte aus anderen Gegenden berichtet werden.

Tabelle 17.

**Zeitdauer der saprophytischen und parasitischen Kultur der *Thielavia*-Stämme.**

Stamm	Zeitdauer der Kultur		Stamm	Zeitdauer der Kultur	
	saprophytisch	parasitisch		saprophytisch	parasitisch
O	5 Jahre	—	DD	2 Jahre 4 Monate	8 Monate
G	7 Jahre	—	AA	1 Jahr 4 Monate	8 Monate
D	3 Jahre	—	JJ	1 Jahr 4 Monate	8 Monate
A	2 Jahre	—	P	nie	nur
J	2 Jahre	—	W	nie	nur
OO	4 Jahre 4 Monate	8 Monate	T	nie	nur
GG	6 Jahre 4 Monate	8 Monate			

Tabelle 18.

**Vorprüfung von 5 Stämmen aus künstlicher Kultur gegenüber Bohnen (Sorte 11).**

Pilzstamm	Befallsgrad	Gewicht
		von 9 Pflanzen
J	stark	30
A	stark	35
O	mittel	50
G	mittel	50
D	schwach	70
	Kontrollreihe	100

Tabelle 19.

**Vorprüfung von 5 Stämmen aus künstlicher Kultur gegenüber Lupine (Art 2).**

Pilzstamm	Befallsgrad	Höhe
		der Pflanzen
		cm
J	stark	20
A	stark	20
O	mittel	26,5
G	mittel	27
D	schwach	30,5
	Kontrollreihe	32,5

In Tabelle 19 wurde ausnahmsweise nicht das Frischgewicht, sondern die Höhe der Pflanzen gemessen. Da das Befallsbild in den beiden vor-

stehenden Versuchen sehr klar war, wurde dieses in die Tabellen eingesetzt (siehe auch Abb. 13 u. 14). In der folgenden Tabelle 20 ist das Versuchsergebnis derselben fünf Stämme gegenüber Tabak dargestellt. Es wurden gleich alle verfügbaren Tabaksorten in diesen Versuch einbezogen, um für spätere Versuche einen Anhaltspunkt über die Resistenz der benutzten Tabaksorten zu gewinnen.



Abb. 13.



### Stamm O

## Stamm G

### Stamm D

Abb. 14.

Abb. 13 und 14: Lupinenwurzeln infiziert mit verschiedenen Pilzstammen.

In diesem Versuch wurde Tabak nur von den Stämmen J und A befallen. Die drei letzten Stämme O, G und D zeigten nicht die geringste Aggressivität gegen Tabak. Wenn trotzdem die Frischgewichte aus diesen Reihen eine zwar geringe, aber doch deutliche Minderung gegen-

### Tabelle 20.

**Vorprüfung von 5 Stämmen aus künstlicher Kultur gegenüber 7 Tabaksorten  
(Sorten 1—7). Gewichte von je 9 Pflanzen.**

Stamm	Sorte 1	Sorte 2	Sorte 3	Sorte 4	Sorte 5	Sorte 6	Sorte 7
	g	g	g	g	g	g	g
J	150	180	155	185	180	155	130
A	150	190	160	190	180	160	140
O	300	220	290	220	210	275	265
G	300	220	300	220	200	270	260
D	310	230	300	225	210	280	260
Kontrollreihe	320	230	310	230	210	280	270

über den Kontroll-Gewichten erkennen lassen, so wäre denkbar, daß die durch unsere Impfmethode an die Wurzeln gelangten Sporen des Pilzes die Pflanze zwar nicht zu befallen vermochten, aber doch eine Hemmung des Wachstums hervorriefen. Ob hier irgendwelche toxischen Ausscheidungen des Pilzes eine Rolle spielen, kann erst durch eingehendere Untersuchungen, die bereits im Gange sind, geklärt werden.

Die drei Tabellen 18, 19 und 20 gestatten zunächst einmal übereinstimmend die Feststellung, daß die benutzten Pilzstämme eine deutlich verschiedene Virulenz besitzen. Auch tritt der Charakter der Stämme als biologische Unterart und nicht als Rassen klar zutage. Hoch virulente Stämme (A und J) zeigen diese Erscheinung gegen alle drei Wirtspflanzen. Entsprechend verhalten sich weniger virulente Stämme (O, G und vor allem D) schwach virulent gegenüber Bohnen und Lupinen und sogar gänzlich avirulent gegen Tabak. Eine Parallele zwischen Zeitdauer der künstlichen Kultur und Abnahme der Virulenz ließe sich zwar für die Stämme J, A, O und G, nicht aber für den Stamm D ziehen. Stamm D befand sich vor seiner Benutzung nur drei Jahre in künstlicher Kultur und besitzt dennoch im Gegensatz zu den fünf bis sieben Jahre lang künstlich kultivierten Stämmen O und G eine bedeutend geringere Virulenz (siehe Tabelle 17). Der Einfluß der künstlichen Kultur kann also nicht ohne weiteres als virulenz-schwächendes Moment gewertet werden.

Um nun einerseits festzustellen, inwieweit die saprophytische Kultur die Virulenz unseres Parasiten herabsetzt, und andererseits die naheliegende Frage zu klären, ob parasitische Lebensweise die verlorengangene Virulenz wieder zu aktivieren vermag, wurden die folgenden Versuche durchgeführt. Für diese kultivierte ich, wie bereits angedeutet, die obigen fünf Stämme während acht Monaten auf der lebenden Pflanze, also parasitisch. Gewählt wurde hierfür die Bohne (Sorte 11) als Wirts-

Tabelle 21.  
Bohnen (Sorten 1, 3, 5, 9, 11): Frischgewichte von je 9 Pflanzen.

Stamm	Sorte 1 g	Sorte 3 g	Sorte 5 g	Sorte 9 g	Sorte 11 g	Befallsgrad
J	30	30	10	20	30	stark
JJ	25	30	8	20	25	stark
A	30	30	12	25	35	stark
AA	30	25	10	20	30	stark
O	55	40	15	45	55	mittel
OO	30	30	10	25	30	stark
G	55	45	15	50	50	mittel
GG	30	25	10	20	25	stark
D	65	60	20	50	60	schwach
DD	30	30	15	25	30	stark
W	30	30	10	20	30	stark
T	30	35	10	20	40	stark
P	70	60	20	50	75	schwach
Kontrolle	75	65	25	65	90	—

pflanze. Ferner kamen in den folgenden Versuchen noch drei weitere, inzwischen gewonnene Pilzstämme (T, W und P) zum Vergleich, so daß also alle Stämme und Re-Isolationen der Tabelle 17 zur Anwendung gelangten (Tabellen 21, 22 und 23).

Tabelle 22.

**Lupinen (Arten 2 und 4): Frischgewichte von je 9 Pflanzen.**

Stamm	Art 2 g	Befalls- grad	Art 4 g	Befalls- grad
J	20	stark	80	mittel
JJ	15	stark	70	mittel
A	20	stark	80	mittel
AA	20	stark	80	mittel
O	45	mittel	85	schwach
OO	25	stark	80	mittel
G	50	mittel	90	schwach
GG	25	stark	75	mittel
D	50	schwach	90	schwach
DD	20	stark	80	mittel
W	20	stark	80	mittel
T	25	stark	90	mittel
P	50	schwach	100	sehr schwach
Kontrolle	50	—	100	—

Tabelle 23.

**Tabak (Sorten 1, 4 und 5): Frischgewichte von je 12 Pflanzen.**

Stamm	Sorte 1 g	Sorte 4 g	Sorte 5 g
J	180	200	180
JJ	180	190	180
A	200	200	200
AA	180	200	180
O	335	360	290
OO	340	340	285
G	330	355	290
GG	340	350	290
D	345	350	280
DD	340	345	285
W	330	360	290
T	340	360	280
P	350	370	285
Kontrolle	360	380	300

Die in den Versuch einbezogene Art 1 (*Lupinus albus*) erwies sich als so weitgehend resistent, daß bei nur ganz geringfügigem Befall durch die virulentesten Stämme keine Gewichtsunterschiede gemessen werden konnten.

Auch in diesem Versuch erwiesen sich nur die Stämme J und A sowie ihre Re-Isolationen von der lebenden Bohne (JJ und AA) als aggressiv für Tabak, während wiederum alle übrigen Stämme und auch ihre Re-Isolationen einschließlich der neu hinzugekommenen und niemals künstlich kultivierten T, W und P Tabak nicht zu infizieren vermochten.

Die Versuche mit Bohnen und Lupinen (Tabelle 21 und 22) lassen klar erkennen, daß sich die Virulenz eines Stammes durch parasitische Lebensweise während einer gewissen Zeit stark erhöht. So stark, daß sie der Virulenz der höchstvirulenten Stämme gleichkommt (Abb. 15). Eine derartige Virulenzsteigerung kommt indessen den beiden hochvirulenten Stämmen J und A nicht zu. Ob dies daher röhrt, daß diesen Stämmen in



Abb. 15.

Bohnenpflanzen Sorte 1.

Links infiziert mit Stamm 0, rechts mit dem reisolierten Stamm 00.

zweijähriger saprophytischer Kultur nichts an Virulenz verloren gegangen ist, oder daß die Bohne als Wirt für die parasitische Kultur nicht die Befähigung zur Erhöhung bzw. Aktivierung eines Virulenzverlustes besitzt, ist hier natürlich nicht zu entscheiden und bedarf weiterer Untersuchungen. Der Stamm D verhält sich insofern interessant, als er durch die parasitische Kultur ebenso virulent für Bohnen und Lupinen wurde wie beispielsweise der hochvirulente Stamm J. Die rein empirisch gewählte Zeittäuer von acht Monaten, während der gleichmäßig alle Stämme parasitisch kultiviert wurden, hat also genügt, die verschiedenen Zeiträume saprophytischer Kultur nahezu völlig auszugleichen, sofern Bohnen und Lupinen als Test-Pflanzen in Frage kommen. Allerdings steht dem wieder entgegen, daß der Stamm P, obwohl niemals saprophytisch kultiviert, eine außerordentlich schwache Virulenz erkennen läßt.

Stamm P erhielt ich an Cyclamenwurzeln, und von diesen wurde er an Bohnen gebracht. Nehmen wir an, daß jede Wirtspflanze einen besonderen Grad oder eine besondere Art von Virulenz des Pilzes erfordert, auf die sich der betreffende Stamm nach längerem oder kürzerem parasitischen Verhältnis einstellt, dann war im obigen Fall für Stamm P die Zeittäuer des parasitischen Verhältnisses mit der Bohne für eine weitgehende Anpassung zu kurz, während sie für die anderen Stämme ausreichend war. Es ist nach dieser Annahme dann auch nicht verwunderlich, daß, wie Tabelle 23 zeigt, die parasitische Kultur auf Bohne keinen einzigen

der ursprünglich für Tabak avirulenten Stämme befähigt hat, diese Wirtspflanze anzugreifen. Aggressiv für Tabak erscheinen vielmehr nach wie vor nur die Stämme A und J, die von Tabakpflanzen isoliert wurden.

Wie eingangs erwähnt, sollten diese Untersuchungen lediglich dazu dienen, die enormen Gegensätze in den Auffassungen über die Pathogenität von *Thielavia basicola* nach Möglichkeit zu klären, und es kann nun zusammenfassend gesagt werden:

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen kommen von *Thielavia basicola* biologische Unterarten vor, die sich hinsichtlich ihrer Virulenz bzw. ihrer Aggressivität gegenüber verschiedenen Wirtspflanzen-Arten deutlich unterscheiden. Die zu unseren Versuchen benutzten Pilzstämme lassen sich in folgende drei Gruppen einteilen:

Gruppe 1: Hochvirulent für Bohnen, Lupinen und Tabak.

Stämme: A und J (AA und JJ).

Gruppe 2: Hochvirulent für Bohnen und Lupinen. Avirulent für Tabak. Stämme: O, G, D, (OO, GG, DD), W, T.

Gruppe 3: Schwachvirulent für Bohnen und Lupinen. Avirulent für Tabak. Stamm: P.

### Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wurde der Einfluß folgender Umweltbedingungen auf Infektion und Krankheitsverlauf, verursacht durch *Thielavia basicola* (Zopf), geprüft: Bodenfeuchtigkeit, Temperatur, Kohlensäuregehalt der Luft, Licht, Ernährung, mechanische Schwächung und Bodenart.

2. Die Bodenfeuchtigkeit erwies sich als direkt proportional dem Grad der Schädigung. Je höher die Bodenfeuchtigkeit, desto günstiger sind die Bedingungen für den Parasiten und desto größer ist die Schädigung.

3. Die Temperatur beeinflußt sowohl den Parasiten wie auch den Wirt. Innerhalb der Temperaturen, die für die Entwicklung der betreffenden Wirtspflanze lebensnotwendig sind, ist die Schädigung um so größer, je mehr sich die Temperatur dem Minimalpunkt nähert.

4. Es hat sich gezeigt, daß Bohnen unter den gewählten Versuchsbedingungen bei einer Konzentration von 2,5 % CO<sub>2</sub> in der Atmosphäre ihr Wachstumsoptimum erreichen. Die stärkste Schädigung liegt etwas oberhalb dieses Optimums. Es folgen dann die Stufen mit einer CO<sub>2</sub>-Konzentration, die mehr oder weniger hemmend auf das Wachstum einwirkt.

5. Starker Lichtmangel, der die Kontrollpflanzen zwar schwächt bzw. Etioment verursacht, bewirkt zusammen mit Pilzbefall völlige Zerstörung der Pflanze. Geringere Abdunkelungen wirken auf Bohnen

ähnlich in entsprechend schwächerem Maß. Bei Tabak dagegen scheinen sie eine Art vorübergehender Widerstandsfähigkeit gegenüber vollem Lichtgenuss hervorzurufen.

6. Die größte Schädigung durch den Pilz erlitten Bohnen, wenn sie unter Stickstoffüberschuss, Stickstoffmangel oder Kaliüberschuss gezogen wurden. Lupinen zeigten die größte Schädigung bei Kaliüberschuss.

7. Starke Beschädigungen der Wurzeln führen naturgemäß zusammen mit Pilzbefall zum Tode der Pflanze. Geringere Schwächung der Pflanzen ermöglichen dieser noch die Bildung von Adventivwurzeln oder stimulieren sogar die Bildung derselben. Mit Hilfe dieser Adventivwurzeln kann sich die Pflanze bis zu einem gewissen Grad erholen und dem Parasiten insofern Widerstand leisten, als sie durch ihn dann nicht völlig zerstört wird.

8. Alle Bodenarten, die arm an organischer Substanz sind bzw. deren organische Substanz zerstört ist (Sterilisation), schalten offenbar die für den Pilz bedeutsame Konkurrenz der Bodenflora aus und sind daher die Ursache für eine ganz bedeutend höhere Schädigung der Pflanzen durch den Pilz, als dies in Böden mit organischer Substanz der Fall ist. Reiner Sand verhindert nicht den Parasiten am Angriff auf die Pflanze, sondern befördert ihn, da der Pilz gar keine andere Wahl hat als die, zum Parasiten zu werden.

9. Es wurden Herkünfte von *Thielavia basicola* aus verschiedenen Gegenden auf ihr parasitisches Verhalten gegenüber einer Reihe von Wirtspflanzenarten und -sorten geprüft. Hierbei konnte die Aufspaltung des Pilzes in biologische Unterarten nachgewiesen werden. Es zeigte sich, daß für Tabak nur die aus Amerika stammenden und von Tabak isolierten Pilzstämme, in Deutschland vorkommende und von Bohnen und Cyclamen isolierte Stämme aber nur für Bohnen und Lupinen aggressiv sind. Die saprophytische Kultur des Pilzes bewirkt Abnahme seiner Virulenz, welche durch parasitische Kultur auf der lebenden Pflanze wieder gesteigert wird.

### Literaturverzeichnis.

- 1 Aderhold, R., Impfversuche mit *Thielavia basicola*. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft am kaiserlichen Gesundheitsamt Band 4, S. 463, 1905.
- 2 Anderson, P. J., Soil reaction and black root-rot of tobacco (Abstract). Phytopathology Vol. 18, p. 131, 1928.
- 3 Anderson, P. J. and Morgan, Black root-rot and soil reaction. Conn. Agr. Exp. Sta. Tob. Sta.; Bull 6, p. 59, 1926.
- 4 Anderson P. J., Osmun, A. V. and Doran, W. L., Soil reaction and black root-rot of tobacco. Mass. Agr. Exp. Sta., Bull. 229, p. 117, 1926.
- 5 Barbatelli und Stazi, Notizie sull'andamento della coltivatione e cure dei Tabaci. Bol. Technic. d. coltiv. d. Tabaci Nr. 1, p. 152, 1902.

- 6 Benincasa, M., Ricerche sui mezzi per difendere i semenzai di Tabaci dall „marciume radicale“ causato dalla *Thielavia basicola*. Bol. Tecn. d. colt. d. Tabaci Nr. 1, p. 24, 1902.
- 7 Berkeley, M. J. and Broome, C. E., Notices of British Fungi. Ann. and Mag. Nat. Hist. S. 2, Vol. 5, p. 461, 1850.
- 8 Briggs, L. J., The field treatment of tobacco root-rot. U. S. Dep. Agr. Bur. Plant. Industr. Circ. 7, 1908.
- 9 Burkholder, W. H., Some root-rot diseases of the bean. (Abstract). Phytopathology Vol. 6, Nr. 1, p. 104, 1916.
- 10 Buttaro, G., Notizie sull'andamento della colt. e cure dei Tabaci. Bol. Tecn. d. colt. d. Tabaci Nr. 1, p. 159, 1902.
- 11 Buttaro, G., Notizie sull'andamento della colt. e cure dei Tabaci. Bol. Tecn. d. colt. d. Tabaci Nr. 1, p. 234, 1902.
- 12 Campbell, C., Moria delle piantine die Tabacco nei semenzai. Italia Agr. Vol. 38, p. 540, 1901.
- 13 Cappelluti-Altomare, G., I semenzai di Tabacco e la *Thielavia basicola*. Bol. Tecn. col. Tabaci, Ann. 1, Nr. 3, p. 137, 1902.
- 14 Chittenden, F. J., Report on investigation of sweat pea diseases. Sweat pea Ann., p. 35, 1911.
- 15 Clinton, G. P. and Jenkins, E. H., Root-rot of tobacco. Conn. Agr. Exp. Sta. Bull. Immed. Inform. Nr. 4, 1906.
- 16 Clinton, G. P., Root-rot of tobacco. Conn. Agr. Exp. Sta. Ann. Report Nr. 30, p. 342, 1907.
- 17 Clinton, G. P., Root-rot of tobacco II. Conn. Agr. Exp. Sta. Report 1907, Part 6, p. 363, 1908.
- 18 Diddens, H. A., Onderzoekningen over den Vlasbrand. Dissertatie, Baarn, 1931.
- 19 Doran, W. L., Effects of soil temperature and reaction on growth of tobacco infected and uninjected with black root-rot. Journ. Agr. Res. Vol. 39, p. 853, 1929.
- 20 Doran, W. L., Increasing soil acidity as a means of controlling black root-rot of tobacco. Mass. Agr. Exp. Sta. Bull. 276, p. 118, 1931.
- 21 Fischer, H., Pflanzenbau und Kohlensäure. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1921.
- 22 Fischer, E. und Gäumann, E., Biologie der planzenbewohnenden parasitischen Pilze. Verlag Gustav Fischer, Jena, 1929.
- 23 Galloway, B. T., Commercial violet culture. New York, 1903.
- 24 Gaßner, G. und Straib, W., Untersuchungen über die Abhängigkeit des Infektionsverhaltens der Getreiderostpilze vom Kohlensäuregehalt der Luft. Phytopathologische Zeitschrift, Band 1, Heft 1, S. 1, 1929.
- 25 Gilbert, W. W., The root-rot of tobacco caused by *Thielavia basicola*. U. S. Dep. Agr. Plant Industr. Bull. 158, p. 55, 1909.
- 26 Johnson, J., Host Plants of *Thielavia basicola*. Journ. of Agr. Res. Vol. 7, p. 289, 1916.
- 27 Johnson, J. and Hartman, R. E., Influence of soil environment on the root-rot of tobacco. Journ. of Agr. Res. Vol. 17, p. 41, 1919.
- 28 Johnson, J., Breeding tobacco for resistance to *Thielavia* root-rot. Techn. Bull. Nr. 175, March 1930, U. S. Dep. Agr. Washington.
- 29 Killebrew, J. B., Report on the culture and curing of tobacco in the U. S. A. U. S. Dep. Int. Cens. Off. Washington D. C., 1884.
- 30 v. Kirchner, O., Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, S. 115, 1923.
- 31 Kletschetooff, A. N., Injury to flax caused by *Thielavia basicola* when the crop is grown uninterruptedly on the same soil. Journ. Scient. Agr. Vol. 12, p. 823, 1926. (ref. Appl. Mycol. Vol. 6, p. 420, 1927.)

- 32 Massee, G. E., Description and life history of a new fungus. *Milovia nivea*. Journ. Roy. Micros. Soc. (London) S. 2, Vol. 4, p. 841, 1884.
- 33 Massee, G. E., A disease of sweat peas, asters and other plants. Roy. Gard. Kew. Bull. Misc. Inform. Nr. 1, p. 44, 1912.
- 34 van der Meer, J. H. H., Vlasbrand (brûlure du lin). Tijdschr. over Plantenziekten, Jaarg 34, p. 126, 1928.
- 35 Morgan and Anderson, P. J., Relation of soil reaction to black root-rot and good tobacco. Conn. Agr. Exp. Sta. Tob. Sta. Bull. 8, p. 47, 1927.
- 36 O' Gara, P. J., Occurrence of *Thielavia basicola* as a root parasit of watermelons in the Salt-Lake Valley, Utah. Science N. S. V. 42, Nr. 1079, p. 314, 1915.
- 37 Peglion, V., Marciume radicale delle piantine di tabacco causato dalla *Thielavia basicola* (Zopf). Cent. Bl. f. Bakt Abt. 2, Bd. 3, p. 580, 1897.
- 38 Peters, L. und Schwartz, M., Krankheiten und Beschädigungen des Tabaks. Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 13, S. 13, 1912.
- 39 Peters, L., Zur Biologie von *Thielavia basicola*. Mitteilungen aus der Biologischen Reichsanstalt, Heft 21, S. 63, 1921.
- 40 Pethybridge, G. H., Lafferty, H. A., Rhynehart, J. G., Investigation on flax diseases (Third report). Journ. Dep. Agr. Techn. for Ireland, Vol. 22 p. 2, 1922.
- 41 Roodenburg, J. W. M., Zuurstofgebrek in den grond in verband met wortelrot. Dissertatie Baarn, 1927.
- 42 Rosenbaum, J., Infection experiments with *Thielavia basicola* on ginseng. Phytopathology Vol. 2, p. 99, 1929.
- 43 Schaffnit, E. und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten (1. Teil). Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich, Heft 3, 1928.
- 44 Schaffnit, E. und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten (2. Teil). Phytopathologische Zeitschrift, Band 1, S. 535, 1930.
- 45 Schaffnit, E. und Meyer-Hermann, K., Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten. Phytopathologische Zeitschrift, Band 2, S. 99, 1929.
- 46 Smith, E. F., Wilt disease of cotton, watermelon and cowpea (*Neocosmospora nov. gen.*). U. S. Dep. Agr. Div. Veg. Physiol. and Path. Bull. 17, p. 35, 1899.
- 47 Sorauer, P., Die Wurzelbräune der Cyclamen. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Band 5, S. 18, 1895.
- 48 Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 5. Auflage, Band 2, S. 500, 1928 und Band 3, S. 648, 1932.
- 49 Thaxter, R., Fungus in violet root. Conn. Agr. Exp. Sta. Ann. Rep., p. 166, 1891.
- 50 Tiddens, B. A., Über die Wurzelfäule der *Primula obconica*, verursacht durch *Thielaviopsis basicola* (Ferraris). Phytopathologische Zeitschrift, Band 7, S. 223, 1934.
- 51 Valleau, W. D., Kenney, R. and Kinney, E. J., Root-rot in Kentucky and its control. Ky. Agr. Exp. Sta. Bull. 262, p. 157, 1925.
- 52 Zopf, W., Über *Thielavia basicola*, einen endophytischen Parasiten in den Wurzeln von *Senecio elegans*. Verhandlungen des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg, Jahrgang 18, S. 101, 1876.
- 53 Zopf, W., Über die Wurzelbräune der Lupinen, eine neue Pilzkrankheit. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Band 1, S. 72, 1891.

Die vorliegende Arbeit wurde im Frühjahr 1932 auf Anregung und unter Leitung von Professor Schaffnit im Institut für Pflanzenkrankheiten Bonn-Poppelsdorf begonnen und bis zum Herbst 1933 durchgeführt. Die Zusammenfassung und Verarbeitung der Versuchsergebnisse erfolgte an der Abteilung für Pflanzenkrankheiten am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung in Gießen. Ich möchte an dieser Stelle besonders Herrn Professor Schaffnit für die Überlassung des Themas und der Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut, sowie den Herren Professoren Funk und Sessous für ihre Unterstützung verbindlichsten Dank sagen.

**Aus der Zweigstelle Aschersleben  
der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft.**

---

## Zur Bekämpfung des Zwiebelbrandes.

Von  
**H. Bremer.**

Mit 5 Textabbildungen.

### Einleitung.

In den Zwiebelaugebieten der gemäßigen Zone ist der Zwiebelbrand die gefährlichste Pilzkrankheit. Brandverseuchte Böden werden bei stärkerem Zwiebelbau „zwiebelmüde“. Aus den befallenen Pflanzen gelangen die Sporen des Erregers *Tubercinia (Urocystis) cepulae* (Frost) Liro in den Erdboden; das aus ihnen keimende Myzel vermag sich lange saprophytisch zu ernähren; eine vollständige Entseuchung durch geregelten Fruchtwechsel, in dem die Zwiebel nicht zu oft erscheint, ist so ausgeschlossen. Bei Brandbefall steht der Zwiebelbauer vor der Entscheidung, entweder mit ständig steigenden Ernteverlusten zu rechnen oder für lange Zeit den Zwiebelbau überhaupt aufzugeben oder schließlich die jeweilige Zwiebelaussaat durch besondere Maßnahmen zu schützen.

Drängend wurde diese Entscheidung zuerst in bestimmten Zwiebelaugebieten Nordamerikas, wo ein starker Anbau mit fehlendem oder geringem Fruchtwechsel die Zwiebelmüdigkeit der Böden ganz besonders steigerte. Es wurde zur Abhilfe dort das Formalindrillverfahren ausgearbeitet (1, 2), das unten näher beschrieben werden soll; es sichert Normalernten auch auf brandverseuchten Böden.

Der Versuch, dieses bewährte Verfahren in einem stark brandgefährdeten Zwiebelaugebiet Mitteldeutschlands einzuführen, scheiterte an der großen Schwierigkeit, das zur Verdünnung des Formaldehyds notwendige Wasser auf dem Felde zur Hand zu haben. Wasserführende Gräben sind in diesem Trockengebiet nicht vorhanden; das Heranbringen von Wasser zur Aussaat aufs Feld ist wegen Mangels an den notwendigen fahrbaren Tonnen in den meist kleinbäuerlichen Betrieben nur schwer

durchführbar. So ging das Bestreben von vornherein darauf hin, ein dem Formalindrillverfahren gleichwertiges Trockenverfahren zu finden.

Das ist auch tatsächlich gelungen. Das neue Verfahren ist viel einfacher als die Formalindrillmethode, erfordert vor allem keine besonderen Geräte. Obwohl gute Erfolge bisher erst in einem Jahre und auf kleinen Teilstücken erzielt worden sind, erfolgt hier die Veröffentlichung der Ergebnisse, da es dem Verfasser aus äußeren Gründen nicht möglich ist, die geplanten Versuche auf größeren Feldern durchzuführen.

### Das Auftreten des Zwiebelbrandes und die Befallsbedingungen.

Zum besseren Verständnis der Ausführungen über die Bekämpfung soll hier kurz das Wesentlichste über das Zustandekommen der Zwiebelbrandschäden aus dem Schrifttum, vor allem nach Anderson (1), berichtet werden. Eine ausführlichere Darstellung in deutscher Sprache ist 1923 von Zillig (3) gegeben worden.

Die ersten Nachrichten von Zwiebelbrandschäden stammen aus den Vereinigten Staaten von Nordamerika (um 1860). 1879 wurde die Krankheit aus Frankreich, bald nach 1900 aus Deutschland gemeldet. Diese zeitliche Folge der Beobachtungen ließ den Eindruck aufkommen, daß der Erreger aus Amerika nach Europa eingeschleppt worden ist. Doch wird das neuerdings wieder bestritten und der Pilz *Tuburcinia cepulae* für eine auch in Europa ursprünglich heimische Form gehalten (4). Wie dem auch sei, jedenfalls dürfte der Zwiebelbrand heute in den gemäßigten Zonen überall vorkommen, wo starker Zwiebelbau getrieben wird. Heißere Gegenden sind von ihm verschont, da der Pilz Temperaturen von 28° und mehr im Erdboden nicht verträgt (5).

Das Schadbild bei der jungen Pflanze (Abb. 3) besteht in schwachen Auftreibungen und Dunkelverfärbungen der röhrigen Blätter; im Innern finden sich die tief schwarzen Sporenmassen („Brand“) des Pilzes; bei weiterer Entwicklung platzen die „Brandschwielen“ und entlassen das Sporenpulver nach außen. Ist nur das Keimblatt befallen, so kommt es oft zur Ausheilung. Sonst schreitet die Krankheit fort und bringt einen großen Teil der Jungpflanzen zum Absterben. Wie schnell es dabei zu Bestandesrückgängen kommt, läßt sich aus den folgenden Zählungen der auf 42 qm brandverseuchten Ackers stehenden Pflanzen ersehen, die im Jahre 1929 von Herrn Diplomgartenbauinspektor N. Nicolaisen vorgenommen wurden:

23. Mai: 3078

15. Juni: 1637

8. Juni: 2478

20. Juli: 1022

(Ein leider nicht näher bestimmter Anteil ist hierbei allerdings dem Fraß von Zwiebelfliegenlarven zuzuschreiben). Diejenigen befallenen Pflanzen,

die nicht sofort absterben, bilden schlechte Zwiebeln aus, zwischen deren Schuppen sich wieder schwarze Sporenmassen finden (Abb. 1). Auch sie gehen im Laufe der weiteren Entwicklung größtenteils zugrunde.

Das aus den offenen Brandschwien herauskommende Sporenpulver gelangt in den Erdboden. Die Sporen keimen dort in langsamer Folge nacheinander aus. Es wird ein rudimentäres Promyzel, dann ein Myzel gebildet, das sich anscheinend unbegrenzt lange im Boden saprophytisch ernähren kann; jedenfalls konnte Anderson (1) noch nach einem Jahre aus einem mit Myzel infizierten sterilen Boden Reinkulturen des Zwiebelbrandpilzes isolieren. Beide Tatsachen, die sparsame, sich über längere Zeit hin erstreckende Keimung und die Möglichkeit saprophytischer Lebenserhaltung, machen den Pilz, wo er einmal Fuß gefaßt hat, fast unausrottbar.

Die Infektion erfolgt durch die unverletzte Oberhaut der Zwiebelpflanze im Erdboden, aber immer nur beim Keimling oder bei der Jungpflanze, am leichtesten innerhalb der ersten fünf Tage und nicht später als am 14. Tage nach beginnender Keimung. Bekanntlich durchstößt die keimende Zwiebelpflanze den Erdboden mit einem „Knie“ ihres langgestreckten Keimblattes; die Infektion setzt offenbar fast immer unterhalb dieses Knies an und stets zuerst am Keimblatt. Die Ausschließlichkeit der Keimlingsinfektion ist sehr wichtig für die Bekämpfungsmöglichkeit. Man hat das frühzeitig erkannt, und alle empfohlenen Bekämpfungsmaßnahmen gründen sich darauf. Man kann sie als zeitlich und örtlich begrenzte Bodenentseuchung bezeichnen, d. h. das Ziel ist, die Umgebung der aufgehenden Pflanze während des Aufgangs frei vom Krankheitserreger zu halten.



Abb. 1.  
Brandkranke Zwiebelpflanze.  
Nach Dressel aus: Appel,  
Atlas der Gemüsekrankheiten.

### **Das Formalindrillverfahren.**

So weit aus der Literatur zu ersehen, hat man in Amerika zunächst die Bodenentseuchung gegen Zwiebelbrand mit Trockenmitteln durchzuführen versucht. Man benutzte das Einstreuen von Kalk oder einer Mischung von Schwefel und Kalk in die Drillreihen. Das Verfahren war aber nicht wirksam genug. Zur Zeit ist man in Amerika offenbar ganz auf das Ein-

träufeln einer schwachen Formaldehydlösung in die Reihen beim Ausdrillen der Saat eingestellt.

Die Stärke der verwendeten Formaldehydlösung schwankt zwischen 32 und 128 Teilen Wassers auf einen Teil des käuflichen, etwa 40%igen „Formalins“ (2), also 1,25 % und 0,3 %. Die stärkeren Mischungen wären in entsprechend geringeren Gaben auszuträufeln; das erscheint schwierig und nicht ungefährlich. Das Flugblatt der landwirtschaftlichen Versuchsstation im Staate Massachusetts (6) empfiehlt die Mischung 1 Teil Formalin auf 128 Teile Wasser und die Verwendung von etwa 4 Liter Flüssigkeit auf etwa 360 m Drillreihe (1 Gallone auf 1200 Fuß). Im Pleasant Valley des Staates Iowa bringt man etwa 5600 Liter einer Mischung von 1:200 auf ein Hektar (7).

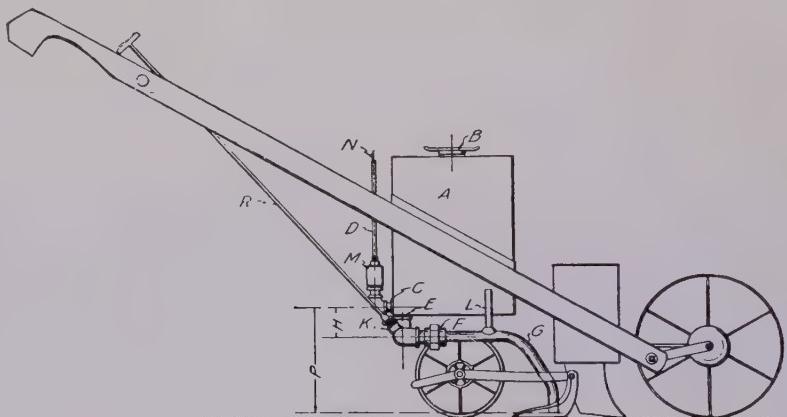


Abb. 2.

Einreihige Tankdrillmaschine zur Bekämpfung des Zwiebelbrandes.  
Schematische Zeichnung aus Anderson und Osmun (2).

Die gleichmäßige Ausbringung dieser Flüssigkeitsmengen auf das Feld erfordert besonders dafür konstruiertes Gerät. Ungleichmäßige Verteilung würde einen Teil der Zwiebelsaat ungeschützt lassen, den andern bei der großen Giftigkeit des Formaldehyds an der Keimung hindern. Das Verteilungsgerät besteht dem Prinzip nach aus einem Tank oder Behälter mit Abfluß, der auf der Drillmaschine angebracht ist, und einer Vorrichtung, welche die Menge der abfließenden Lösung nach Bedarf zu regeln gestattet. In Amerika ist eine ganze Reihe verschiedener derartiger Vorrichtungen in Gebrauch. Abb. 2 gibt ein neues, besonders genau arbeitendes Modell einer einreihigen Tankdrillmaschine nach Anderson und Osmun (2) im Schema wieder. Darin bedeutet A den Tank, der im beschriebenen Fall etwa  $17\frac{1}{2}$  l faßt und einen nach dem Ausfluß hin abgeschrägten Boden hat, B einen luftdicht schließenden Schraubverschluß, E den Ausfluß (Durchmesser etwa  $1\frac{1}{4}$  cm), von dem aus die Lösung durch das biegsame Rohr G (Durchmesser etwa 1 cm) zwischen Drillschar und Druckrolle in den Erdboden trüpfelt. In der Verschraubung F ist zwischen zwei Gummiringen eine durchbohrte Messingscheibe befestigt; die Weite der Durchbohrung regelt die Stärke des Ausflusses; die Scheibe kann nach Bedarf ausgewechselt werden. Bei K verschließt und öffnet ein durch die Stange R bedienter Hahn den Weg für die Flüssigkeit. Das Standrohr D, durch das Luftloch C mit dem Tank

verbunden, dient dazu, die Geschwindigkeit des Ausflusses, die bei Luftzufuhr durch B allmählich abnehmen würde, gleichmäßig zu gestalten. Bei M ist ein Schwimmer angebracht, der sich nach oben bewegt, sobald durch Einströmen von Luft bei B Flüssigkeit in das Standrohr D dringt; durch Herausragen des an ihm befestigten Drahtes N wird die Undichtigkeit und damit das ungenaue Arbeiten angezeigt. L ist ein weiteres Standrohr, das Luftstauungen zwischen F und G, die ebenfalls zu ungenauem Ausfließen führen würden, unmöglich machen soll.

Das Formalindrillverfahren ist in der amerikanischen Praxis durchaus eingeführt. In dem sehr intensiven Zwiebelbau des Pleasant Valley im Staate Iowa z. B. benutzt „jeder Anbauer ... dieses Verfahren in der Mehrzahl der Fälle mit befriedigenden Ergebnissen. ... Die Wichtigkeit der Brandbehandlung in dieser Gegend lässt sich durch folgendes Beispiel beweisen. 1920 wurde eine Anzahl von Drillreihen in einem Feld, auf dem seit Jahren ununterbrochen Zwiebeln angebaut worden waren, unbehandelt gelassen. Zur Erntezeit standen in den unbehandelten Reihen drei reife Zwiebeln je Fuß ( $30\frac{1}{2}$  cm) gegen sieben in den behandelten. Der Gesamtertrag an erstklassiger Marktware ... ergab eine Steigerung um 60 % durch die Formaldehydbehandlung“ (7).

Statt des Formaldehyds hat man in Amerika auch das deutsche Beizmittel Kalimat in gleicher Verwendungsweise benutzt (8). Es hat die gleiche Wirkung, ist aber dem Formaldehyd wegen seiner relativen Sicherheit bei Verwendung von konzentrierteren Lösungen und auf sehr trockenen Böden überlegen. Unter letzteren Bedingungen verursacht Formaldehyd häufig ernste Schäden. Als Dosierung wird empfohlen: 175 Liter einer 2 %igen Kalimatlösung auf  $\frac{1}{4}$  ha bei 32 cm Reihenentfernung, bei sehr trockenem Boden größere Verdünnung.

### **Ersatz des Formalindrillverfahrens durch ein Trockenverfahren.**

Das Formalindrillverfahren stellt zweifellos eine gewisse Komplizierung und Erschwerung der Zwiebelaussaat dar, die man in Amerika als kleineres Übel in Kauf nimmt. Anscheinend um diese Schwierigkeit zu umgehen, hat man dort bereits versucht, Formaldehyd in fester Form zu verwenden. „Bei der Trockenbehandlung ... wird die gleiche Menge von Formalin“ wie bei der flüssigen Anwendung „benutzt, jedoch ist es von einem Träger aufgesaugt, der aus gleichen Teilen Kaolin und Kieselgur besteht. Diese Mischung nimmt 15 Gewichtsprozente einer 40 %igen Formaldehydlösung auf, ohne schmierig zu werden. Ungefähr 90 pounds dieser Pulvermischung müssen je acre angewendet werden“ (also etwa 100 kg je Hektar), „um eine Menge Formaldehyd auf den Acker zu bringen, die der Verwendung von 200 Gallonen“ (2240 Liter je Hektar)“ der flüssigen Mischung 1:128 entspricht. Das Pulver wird mit der Saat zusammen durch eine Vorrichtung in die Drillreihe gebracht, die einem Düngerdrillgerät entspricht. ... Die Behandlung mit Flüssigkeit ist in den Jahren mit niedrigerer Bodenfeuchtigkeit zur Aussaatzeit wirksamer; ... die Trocken-

behandlung wird bei sehr nassem Boden besser sein“ (Vorschrift der landwirtschaftlichen Versuchsstation für Ohio, 9).

Es mag hier gleich vorweggeschickt werden, daß eine Behandlung nach derartiger Vorschrift bei eigenen Versuchen nicht befriedigte.

Diese eigenen Versuche, von denen im folgenden die Rede sein soll, wurden stets als Vorversuche im Gewächshaus, als Hauptversuche auf brandverseuchten Zwiebelfeldern durchgeführt.

In den Vorversuchen wurde natürlich verseuchter Boden nach gründlicher Durchmischung in Pikierkästen oder Vegetationsgefäß aus Glas oder Metall eingefüllt und mit Zwiebelsaat besät, wobei in den Kästen gewöhnlich je eine behandelte mit einer unbehandelten Reihe abwechselte. Die Pikierkästen maßen etwa 40:25 cm, eingesät wurden jeweils vier Reihen; bei der Reihenentfernung von 5—6 cm wurde eine Beeinflussung des Brandbefalls in den unbehandelten Reihen durch die Behandlung der Nachbarreihe nicht festgestellt. Als Saat verwendet wurde ausschließlich die Zwiebelsorte Gelbe Zittauer Riesen. Zur Prüfung des Befalls entnommen wurden die jungen Pflänzchen, sobald bei der Mehrzahl das erste Laubblatt sich zu zeigen begann; in diesem Zeitpunkt waren die Sporenmassen in den befallenen Keimblättern bereits gut ausgebildet. Die Pflanzen wurden, wie es auch schon von amerikanischen Untersuchern empfohlen wird, einige Tage in Brennspiritus gelegt, um das Blattgrün zu entfernen; dann hoben sich die schwarzen Brandstellen außerordentlich scharf von der weißen Umgebung ab und ließen die Bewertung auf Befall schnell und sicher durchführen (Abb. 3).

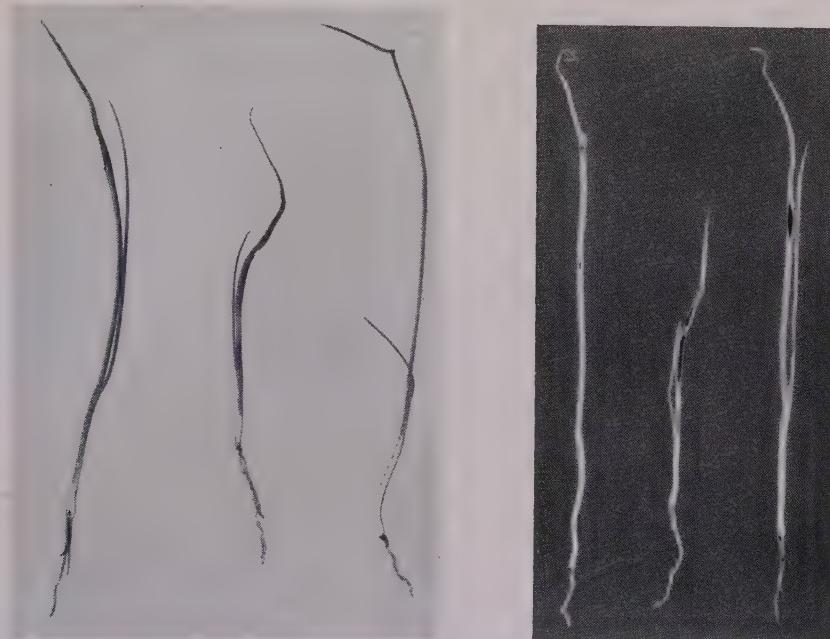
Die Feldversuche<sup>1)</sup> wurden je nach der verfügbaren Fläche in Teilstücken von etwa 1—6 qm mit drei- bis fünffacher Wiederholung angelegt. Einmal wurden auch größere Feldteile in den Versuch einbezogen. In den meisten Fällen war der Acker in üblicher Weise zur Zwiebelaussaat vorbereitet; die Aussaat erfolgte zur normalen Zeit, gleichzeitig die Behandlung. Nach beginnender Bildung des ersten Laubblattes wurden Stichproben entnommen und, wie oben beschrieben, auf Brandbefall ausgewertet. Diese Auswertung wurde nach Bedarf wiederholt oder auch, nachdem der Befall durch Aufbrechen der Brandschwielen nach außen hin deutlicher geworden war, durch unmittelbare Auszählung der kranken Pflanzen auf dem Felde vorgenommen. Wenn die Wirkung der Behandlung auf den Befall es rechtfertigte, wurde schließlich noch die Erntemenge der Teilstücke festgestellt.

Die Versuche hatten zunächst das Ziel, den bewährten Formaldehyd statt in Wasser nach amerikanischem Vorbild in einem streubaren Träger zu verdünnen; daneben wurden fester, pulverförmiger Paraformaldehyd und mehrere von der Pflanzenschutzmittelindustrie zur Verfügung ge-

<sup>1)</sup> Für freundliche Unterstützung bei diesen Versuchen sei Herrn Diplomgartenbauinspektor Nicolaisen und Herrn Diplomlandwirt Voigtländer bestens gedankt.

stellte Versuchspräparate mit ähnlicher Wirkung in die Versuche einbezogen.

Neben der „Ohio-Mischung“ (s. S. 57) mit Formaldehyd, die durch Verwendung größerer Mengen von Kaolin und Kieselgur auf dem Felde zu teuer geworden wäre, wurde ein Gemisch von Staubkalk mit Formaldehyd, im gleichen Mischungsverhältnis hergestellt, geprüft. In sechs Gewächshausversuchen zeigte sich, daß beide Mischungen zwar Brand-



Phot. Albrecht.

a

b

Abb. 3.

- a Brandbefallene Zwiebel-Jungpflanzen.
- b Dieselben Pflanzen nach Chlorophyllzug.  
Annähernd natürliche Größe.

befall zu verhüten imstande waren; jedoch traten häufig sehr ernste Keimschädigungen auf, und die Stärke dieser Schäden war in kein festes Verhältnis zur Dosierung zu bringen. Offenbar sind die Bedingungen für die Entbindung von Formaldehydlösung bzw. -dampf aus diesen Mischungen von verschiedenen Bedingungen abhängig, die schwer, im Feldversuch wohl überhaupt nicht, in die Hand zu bekommen sind. In zwei Feldversuchen (1934) mit je drei bzw. fünf Teilstücken von 4,5 bzw. 3,5 qm war die Wirkung der „Ohio-Mischung“ unbefriedigend. Es wurden Rückgänge im Brandbefall der Jungpflanzen von 60 % bei Unbehandelt auf 52 % bzw. von 27 % auf 17 % festgestellt. Infolge der nicht ermutigenden Ergebnisse wurde dieser Weg verlassen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Paraformaldehyd. Verwendet wurden hier drei verschiedene Herkünfte des Präparats in insgesamt 30 Versuchen, davon drei Feldversuchen. Da die Ergebnisse gegen die Verwendbarkeit von Paraformaldehyd sprechen, werden sie im einzelnen nicht aufgeführt. Zunächst zeigte sich, daß das Verhältnis von brandverhütender zu keimschädigender Dosis, der chemotherapeutische Index, bei den verschiedenen Herkünften nicht den gleichen Wert hatte. Ob hierfür verschiedenes Alter der Präparate, verschiedene Polymerisation oder sonstige Bedingungen verantwortlich waren, muß unentschieden bleiben, ist auch für die praktische Frage ohne Bedeutung. Die absolute Höhe der brandverhütenden Dosis lag ebenfalls verschieden hoch, nach den Gewächshausversuchen zwischen 0,05 g und 0,125 g je Meter Drillreihe. Der Versuch, die Schwierigkeit des gleichmäßigen Ausstreuens so kleiner Mengen durch Strecken des Präparats mit neutralen Trägern wie Kaolin-Kieselgur, Grudekoks, Braunkohlen- und Schlackengrus zu verringern, brachte keine bessere Wirkung hervor; ein Blindversuch mit reinem Grudekoks zeigte, daß dieser sogar an sich schon keimungshemmende Wirkung ausüben kann. Entscheidend für die Aufgabe des Paraformaldehyds bei der weiteren Prüfung waren die Ergebnisse der Feldversuche; sie zeigten in zwei verschiedenen Jahren (1930 und 1932), daß eine gewisse, nicht einmal sichere Wirkung des Paraformaldehyds auf die Befallsverhütung nur auf Kosten des Aufgangs zu erzielen war; die geforderte Ernteerhöhung gegen Unbehandelt blieb aus.

Von Streumitteln wurden ferner geprüft: das von amerikanischer Seite empfohlene Schwefelkalkgemisch in zwei Feldversuchen und vier von der Pflanzenschutzmittelindustrie zur Verfügung gestellte Versuchspräparate, die eine dem Formaldehyd ähnliche Wirkung entfalten sollten, in sieben Gewächshaus- und zwei Feldversuchen, sämtlich ohne Aussicht auf praktischen Erfolg.

In sieben Versuchen wurde geprüft, ob die bei der Trocken- bzw. Kurznaßbeize des Samens an diesem haftenden Mengen der Beizmittel — verwendet wurden sieben verhältnismäßig am aussichtsreichsten erscheinende Präparate — zur vorübergehenden Bodenentseuchung in der nächsten Umgebung des Keimlings ausreichen würden. In keinem Falle war die gewünschte Wirkung vorhanden, Keimschäden kamen vor.

Im Jahre 1934 wurde von der Industrie ein Präparat B. für Versuche zur Bekämpfung der Kohlhernie zur Verfügung gestellt. Über seine Zusammensetzung war nichts bekannt; als seine Vorteile wurden verhältnismäßig langdauernde Bodenentseuchungswirkung und geringe Schädlichkeit für höhere Pflanzen angegeben. Die Vorprüfung im Gewächshaus verlief aussichtsreich; die Ergebnisse mögen daher im Vergleich zum Formalintrockenverfahren hier wiedergegeben werden:

29. Januar 1934. Im Gewächshaus drei Pikierkästen (40 : 25 cm) mit Zwiebelbranderde angesetzt, je vier Längsreihen mit je 100 Zwiebelsamen besät, in die Reihen eingestreut:

1. Nichts (unbehandelt).
2. Präparat B.
3. Ein Gemisch von Kalk und 40 % Formaldehyd im Verhältnis 8 : 1,5.
4. Ein Gemisch von Kalk mit Bodenentseuchungsmittel X im gleichen Verhältnis.

Mengen der Streumittel im Kasten: a) 0,05 g, b) 0,1 g, c) 0,2 g je Reihe, entsprechend a) 0,125 g, b) 0,25 g, c) 0,5 g je Meter. Vorversuch ohne Wiederholung. Entnahme der Pflanzen am 22. Februar. Ergebnis:

	Befall Prozent			Zahl gesunder Pflanzen		
	a)	b)	c)	a)	b)	c)
Unbehandelt . . . . .	76,7	70,4	78,7	22	13	7
Präparat B. . . . .	8,7	6,5	3,7	84	72	79
Formaldehyd . . . . .	67,7	85,2	54,2	30	14	11
Präparat X. . . . .	3,6	0,0	—	81	89	—

Die Wirkung von B. und X. war als gut zu bezeichnen, Formaldehyd hatte kaum gewirkt, X. hatte in der höchsten Konzentration die Keimung verhindert.

Daraufhin wurde am 22. März 1934 ein Feldversuch angelegt. Auf einem als brandverseucht bekannten Felde wurden 54 Reihen von 6 m Länge aufgezogen, durch Einstreuen der Mittel mit der Hand so behandelt, daß in dreimaliger Wiederholung je sechs Teilstücke von je drei Reihen, bei einer Reihenentfernung von 0,20 m also von 3,6 qm, entstanden, und dann die Reihen gleichmäßig aus einer Handdrillmaschine mit Zwiebelsamen bedrillt.

Die Behandlung bestand in:

Teilstück 1. 100 Teile Kaolin + Kieselgur (1 : 1) und 15 Teile 40 % iges Formaldehyd, 3,3 g/m („Ohio-Gemisch“ in verstärkter Gabe).

Teilstück 2. B. 0,83 g/m.

Teilstück 3. B. 0,42 g/m.

Teilstück 4. Kalk + X. (8 : 1,5), 0,42 g/m.

Teilstück 5. Kalk + X. (8 : 1,5), 0,21 g/m.

Teilstück 6. Unbehandelt.

Das Ergebnis läßt sich wie folgt zusammenfassen:

Teilstück	Behandlung	Befall am 17. Mai in Prozenten	Erntemengen am 11. August in Kilogramm	
1	Formaldehyd	45,0—57,6 durchschnittlich 51,5	3,5—7,8 zusammen	16,4
2	B., stark	27,3—38,9 "	4,9—6,9 "	17,8
3	B., schwach	31,6—42,8 "	4,8—6,7 "	17,2
4	X., stark	59,2—64,8 "	4,5—6,0 "	16,3
5	X., schwach	64,4—83,5 "	3,6—6,4 "	15,6
6	Unbehandelt	38,0—82,5 "	3,8—7,7 "	17,6

(Bei den großen Schwankungen in den Wiederholungen eines Versuchsgliedes, die bei derartigen Versuchen mit natürlicher Bodenverseuchung unvermeidlich sind, wurde hier und im folgenden von der Berechnung des mittleren Fehlers abgesehen und die Gesamtschwankung wiedergegeben.)

Präparat B. allein hatte zweifellos brandvermindernd gewirkt; Mittel X., das sich auch sonst in der Wirkung als sehr schwankend erwies, hatte diesmal ebenso versagt wie die „Ohio-Mischung“ mit Formaldehyd. Die Erntemengen der einzelnen Parzellen schwankten sehr stark, da, wie sich herausstellte, größere Bodenungleichheiten bestanden. Jedenfalls reichte die Wirkung von Mittel B. nicht aus, um über diese Schwankungen hinweg als deutliche Vermehrung der Erntemenge in Erscheinung zu treten.

Ein zweiter Feldversuch, nach dem gleichen Plan, doch mit geringeren Gaben der Bekämpfungsmittel angelegt, brachte entsprechende, zahlenmäßig noch weniger voneinander abweichende Ergebnisse.

Bei diesem Stand der Sachlage war als aussichtsvoll nur noch das Präparat B. übriggeblieben, doch hatte es im Felde noch nicht voll befriedigt. Das konnte daran liegen, daß die Verteilung durch Ausstreuen mit der Hand in die Versuchsreihen das Mittel nicht zur vollen Wirkung hatte kommen lassen. Die Verteilungsfrage erforderte auch aus anderen Gründen besondere Erwägung; sie wurde beim Übergang von kleinen Versuchsteilstücken zu ganzen Feldern eine arbeitstechnische Frage. Schon bei den Paraformaldehyd-Versuchen der Vorjahre hatte sie eine Rolle gespielt. Ausstreuen mit der Hand in die Reihen war nur im kleinsten Maßstabe möglich. Breitwürfiges Streuen hätte zu Materialverschwendungen und Unwirtschaftlichkeit geführt. Ausstreuen mit dem Samen zusammen aus der Drillmaschine war nicht möglich; bei entsprechenden Versuchen zeigte sich, daß eine Entmischung des Samen-Pulvergemisches eintrat. Die Verwendung eines Reihendüngerstreuers, die ebenfalls versucht wurde, befriedigte nicht, da er auf das Ausstreuen derart feinen Pulvers nicht eingerichtet war und bald schwer zu beseitigende Hemmungen auftraten. So wurde schließlich der Versuch gemacht, Zwiebelsaatgut in leicht angefeuchtetem Zustande mit dem Präparat B. zu schütteln und dadurch mit einer dichten Kruste zu überziehen. Derselbe Vorgang mit formaldehydhaltigen Trockenmitteln hatte unweigerlich zur Abtötung des Saatgutes geführt. Mit Mittel B. nahm der Vorversuch im Gewächshaus folgenden Verlauf:

Am 14. Januar 1935 wurden 45 Glashäfen von je einem Liter Inhalt mit brandverseuchter Erde gleichmäßig gefüllt und angegossen. 15 davon dienten zur Wiederholung des Streuversuchs mit Präparat B. in verschiedener Dosierung; sie können hier unberücksichtigt bleiben, da sie keine wesentlich neuen Ergebnisse brachten. Die übrigen 30 waren in sechs Gruppen zu je fünf Häfen geteilt, die jeweils gleich behandelt

wurden. Eingesät wurden je 100 Zwiebelsamen, bis auf Gruppe f, die 200 Samen erhielt (s. unten).

#### Behandlung:

Gruppe d) Samen mit Präparat B. inkrustiert, wie oben beschrieben im Gewichtsverhältnis 4 (Samen): 1 (B.).

Gruppe e) desgleichen im Verhältnis 2:1. Damit war die Aufnahmefähigkeit der Samenoberfläche für B. erschöpft. Um noch mehr von dem Präparat in den Erdboden zu bringen, wurde bei

Gruppe f) die doppelte Menge des Samens von e ausgesät und später die Hälfte der Pflanzen unmittelbar nach dem Aufgang wieder entfernt.

Gruppe g) „Ohio-Mischung“ mit Formaldehyd (s. oben) 2,5 g/m (etwas stärker als die amerikanische Vorschrift) gestreut.

Gruppe h) dieselbe Mischung in gleicher Stärke und Menge mit Kalk statt Kaolin-Kieselgur.

Gruppe i) unbehandelt.

#### Ergebnisse bei Entnahme am 11. Februar:

Gruppe	Behandlung	Brandbefall in Prozenten	Gesunde Pflanzen Zahl
d	B. inkrustiert 1:4 . .	9,8—30,6 durchschnittl. 18,7	50—72 durchschnittl. 58,8
e	B. " 1:2 . .	1,2—12,2 " 6,8	67—80 " 72,8
f	B. " 1:1 . .	1,2—7,6 " 3,9	69—85 " 75,2
g	Formaldehyd mit Kaolin und Kieselgur . . :	0,0—0,0 " 0,0	6—19 " 14,2
h	Formaldehyd mit Kalk :	0,0—7,1 " 1,4	2—13 " 6,2
i	Unbehandelt . . . . .	67,9—80,0 " 76,7	15—27 " 18,2

Das Inkrustierungsverfahren mit Präparat B. hatte also ein gutes Ergebnis gebracht, während die Formalin-Trockenmischung den Aufgang stark geschädigt hatte.

In die beiden folgenden Feldversuche wurde nunmehr nur noch Präparat B. einbezogen und die Wirkung der Streu- und der Inkrustierungsbehandlung miteinander verglichen.

In dem einen Versuch wurde

1. Zwiebelsaat mit der halben Gewichtsmenge B. inkrustiert, nachdem sie mit Wasser im Verhältnis 100 g:15 ccm befeuchtet worden war. Es kamen dabei 0,125 g B. auf den Meter Drillreihe.

2. Die doppelte Gabe B. wurde in der Form verabreicht, daß mit dem Gemisch 1. ein gleiches, aus totem, keimunfähigem Zwiebelsamen hergestelltes in derselben Menge vermischt wurde (0,25 g/m B.).

3. Präparat B. wurde in der Menge von 0,25 g/m und

4. 0,5 g/m in die Drillreihen gestreut. Das

5. Teilstück blieb unbehandelt.

In allen diesen Teilstücken fielen 12,5 kg Samen je Hektar.

6. bis 10. In weiteren fünf Teilstücken wurden 20 kg Samen je Hektar gesät. Die B.-Menge war entsprechend bei 6. auf 0,2 g/m, bei 7. auf 0,4 g/m erhöht, bei 8. blieb sie 0,25 g/m, bei 9. 0,5 g/m, 10. war unbehandelt.

Die Teilstücke waren je 6 qm groß, die Wiederholung vierfach. Vorfrucht war Zwiebel, so daß mit starkem Befall zu rechnen war.

Die Einsaat erfolgte am 12. April 1935, die erste Entnahme von Pflanzen zur Bewertung auf Befall am 29. Mai (je Teilstück 1 m Reihe, in 10 Stücken zu je 10 cm entnommen), am 14. Juni wurden 2 m Reihe in jedem Teilstück auf Pflanzenbestand ausgezählt, am 2. Juli desgleichen je 4 m, wobei die Zahl der sichtbar brandbefallenen Pflanzen festgestellt wurde, am 28. August wurde geerntet, am 13. bis 14. September wurden die trockenen Zwiebeln geputzt und gewogen.

#### Ergebnis in der Tabelle (Seite 65).

Die Verseuchung des zu diesem Versuch verwendeten Feldstückes war sehr hoch, wie aus den Befallsprozenten der unbehandelten Teilstücke hervorgeht. B. hat bis zum 29. Mai dem Anschein nach nicht sehr stark brandverhütend gewirkt, doch war die Wirkung besser, als aus den bloßen Prozentzahlen zu ersehen ist; der Befall war bei den behandelten Pflanzen meist schwächer, nur auf Einzelstellen in den Keimblättern beschränkt. Infolgedessen ist bei einem viel größeren Anteil der behandelten Pflanzen Ausheilung eingetreten als bei den unbehandelten: Auf den Parzellen 5 und 10 ist der Anteil kranker Pflanzen vom 29. Mai bis 2. Juli etwa auf die Hälfte gesunken, und das ist hauptsächlich durch Absterben der kranken Pflanzen erfolgt, wie aus dem Rückgang des ganzen Pflanzenbestandes zu ersehen ist. Dagegen ist der Befallsanteil auf den mit B. bestreuten Reihen auf ein Drittel bis ein Fünftel, bei den inkrustierten gar auf ein Sechstel bis ein Zwölftel in derselben Zeit zurückgegangen, der Pflanzenbestand viel weniger als bei Unbehandelt. (Übrigens ist ein Teil des Bestandesrückganges auch auf Fraß von Zwiebelfliegenlarven, *Hylemyia antiqua* Mg., zurückzuführen; doch war dieser Anteil nicht sehr groß. Am 14. Juni, also zur Hauptfraßzeit der Larven, wurden von insgesamt 1922 auf dem ganzen Versuchsstück ausgezählten Pflanzen 81, das heißt 4,2% von Maden zerstörte festgestellt.) In der Befallsverhütung war das Inkrustierungsverfahren dem Streuverfahren deutlich überlegen, und auch der Ernteertrag zeigt noch einigermaßen diese Überlegenheit. Das Verhältnis 1:2 für Präparat B. zu Saatgut hat sich dabei als ausreichend erwiesen. Die Höhe des Ernteertrages schließlich zeigt den Erfolg der Behandlung mit Präparat B. in außerordentlich günstigem Lichte: die Ertragssteigerung beträgt im ungünstigsten Falle 86%, im besten 188%. Veranschaulicht wird das Ergebnis durch die Abbildungen 4 und 5.

Ein zweiter nach denselben Gesichtspunkten mit dreifacher Wiederholung angesetzter Feldversuch brachte den gleichen Erfolg. Auf Wieder-

Teilstruktur	Behandlung	1			2			3			4			5			6			7			8				
		29. Mai Pflanzen je Meter, Zahl	14. Juni Pflanzen je Meter, Zahl	2. Juli Pflanzen je Meter, Zahl	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	29. Mai Brandkrank in Prozenten	2. Juli Brandkrank in Prozenten	
12 Kilogramm je Hektar Saat																											
1 B. inkrustiert 1 : 2 (0,125 g/m)	19-31	26,3	14,5-31,0	22,3	14,0-23,3	20,1	50,0-63,2	56,7	5,4-14,9	9,0	8,6-10,7	9,8	143,4-178,5	163,4													
2 B. inkrustiert 1 : 1 (0,25 g/m)	22-29	24,8	11,5-18,5	16,0	17,0	24,8	20,4-24,1	36,7	2,9-10,0	5,8	7,5-10,8	9,3	125,0-180,0	155,0													
3 B. gestreut (0,25 g/m) . . .	13-28	21,3	14,5-22,5	17,9	14,0-17,5	16,1	42,9-83,3	6,9	18,6-24,6	22,2	6,7-8,7	7,5	111,7-145,0	125,0													
4 B. gestreut (0,50 g/m) . . .	22-33	28,8	14,5-22,5	18,1	12,5-19,0	16,1	45,5-54,6	50,4	7,9-17,4	10,5	6,0-11,0	7,9	100,0-183,4	131,8													
5 Unbehandelt. . . . .	10-27	17,5	5,0-30,5	22,1	10,3	15,8	11,9	87,0-92,8	90,0	38,4-66,0	47,8	2,1-5,0	3,4	35,0-83,4	56,7												
20 Kilogramm je Hektar Saat																											
6 B. inkrustiert 1 : 2 (0,20 g/m)	37-54	41,3	23,0-45,0	35,1	20,5-33,3	25,3	37,9-59,5	50,3	2,3-6,2	4,2	8,1	13,6	10,8	135,0-227,0	180,0												
7 B. inkrustiert 1 : 1 (0,40 g/m)	28-41	36,3	20,5-43,5	31,3	16,3	34,3	24,3	14,6-42,9	26,2	0,0-8,9	3,9	9,8-11,1	10,5	163,4-185,0	175,0												
8 B. gestreut (0,25 g/m) . . .	26-45	35,5	12,0	33,0	27,1	16,3-27,8	22,9	54,6-74,2	65,2	9,8-25,4	18,8	8,5-10,5	9,3	141,7-175,0	155,0												
9 B. gestreut (0,50 g/m) . . .	18-40	26,3	18,5-38,0	26,5	19,0-33,0	25,3	39,2-75,0	48,6	4,9-18,2	11,4	9,9-11,6	10,7	165,0-193,2	178,5													
10 Unbehandelt. . . . .	22-47	39,0	18,5-32,0	23,9	13,5-18,0	15,4	86,5-96,8	91,6	41,8-59,3	47,4	4,6-5,4	5,0	76,7-90,0	83,4													

gabe der einzelnen Zahlen wird aus Gründen der Raumersparnis verzichtet. Der Befall war durch die Behandlung im Jugendzustand der Pflanzen von durchschnittlich 92% auf 50 bis 22%, im Juli von 34% auf 9 bis 2% herabgesetzt, die Erntemenge um 34 bis 114% erhöht. Auch hierbei war das Inkrustierungsverfahren überlegen.



Phot. Bremer.

1 c                  2 c                  3 c                  4 c                  5 c

Abb. 4.

Ernteergebnis eines Feldversuchs mit Präparat B.  
Behandlung: 1 c inkrustiert mit kleiner Menge Präparat B.

- 2 c inkrustiert mit großer Menge Präparat B.
- 3 c bestreut mit kleiner Menge Präparat B.
- 4 c bestreut mit großer Menge Präparat B.
- 5 c unbehandelt.



Phot. Bremer.

9 b                  10 b

Abb. 5.

Ernteergebnis der Teilstücke 9 b und 10 b eines Feldversuchs.  
9 b mit Präparat B behandelt, 10 b unbehandelt.

### Zusammenfassung.

Wo Zwiebelbrand bei intensivem Zwiebelbau auftritt, muß er unbedingt durch ein Verhütungsverfahren bekämpft werden; sonst tritt zunehmende Zwiebelmüdigkeit der Böden ein. Nach den Infektionsbedingungen besteht dieses Verhütungsverfahren am besten und billigsten in einer zeitlich und örtlich begrenzten Bodenentseuchung bei der Aussaat.

In der amerikanischen Praxis seit langem dafür bewährt ist das Formalindrillverfahren. Seine Vorschriften werden wiedergegeben. Notwendig ist dafür ein besonders hergerichtetes Drillgerät; eine neuere amerikanische Konstruktion wird beschrieben.

Das Formalindrillverfahren erfordert das Heranschaffen größerer Wassermengen zum Drillen. Dies und die Notwendigkeit der Anschaffung einer Tankdrillmaschine machen es etwas umständlich. Einfacher ist ein Trockenverfahren. Die nach amerikanischer Vorschrift vorgenommene Ausbringung eines Pulvers, in dem Formaldehyd aufgesaugt ist, hat sich in eigenen Versuchen nicht bewährt. Ebensowenig brachten Versuche mit einer Reihe anderer geprüfter Präparate ein günstiges Ergebnis. Als wirksam gegen Zwiebelbrand und gleichzeitig ungefährlich für die Zwiebelkeimung erwies sich in diesen Versuchen bisher nur ein als Präparat B. bezeichnetes Mittel unbekannter chemischer Zusammensetzung. Seine einfachste und dabei wirksamste Anwendung erfolgt derart, daß man die leicht angefeuchtete Zwiebelsaat mit der halben Gewichtsmenge des Präparats gründlich schüttelt, so inkrustiert und dann gleich ausdrillt. Das Ausdrillen derart vorbereiteten Saatgutes kann, wie angestellte Versuche zeigten, ohne Schwierigkeit erfolgen. Es wurde mit diesem Verfahren eine Normalernte auf schwer brandverseuchtem Boden, im günstigsten Falle eine Erntesteigerung bis zu 188 % erzielt.

Bevor das vorstehende Verfahren der Praxis uneingeschränkt empfohlen wird, erscheint die Durchführung weiterer Versuche auf größeren Feldflächen notwendig.

### Schriftenverzeichnis<sup>1)</sup>.

- 1 P. J. Anderson. Development and pathogenesis of the onion smut fungus. — Massachusetts Agr. Exp. Sta., Techn. Bull. No. 4, 1921, 99—133. Dort die ältere Literatur über den Zwiebelbrand.
- 2 P. J. Anderson und A. V. Osmun. An improved formaldehyde tank for the onion drill. — Phytopathology 13, 1923, 161—168. Dort die ältere Literatur über Bekämpfungstechnik.
- 3 H. Zillig. Unsere heutigen Kenntnisse vom Zwiebelbrand (*Tuburcinia [Urocystis] cepulae* [Frost] Liro) und seiner Bekämpfung. — Zentralblatt für Bakteriologie II, 60, 1923, 50—58.
- 4 I. Liro. Finland: the Onion smut. — Intern. Bull. Plant Prot. 8, 1934, 150—151. Ref. in Rev. Appl. Mycol. 13, 1934, 743.
- 5 J. C. Walker und F. L. Wellman. Relation of temperature to spore germination and growth of *Urocystis cepulae*. — Jl. Agr. Res. 32, 1926, 133—144.
- 6 H. T. Fernald und A. V. Osmun. The control of onion diseases and Thrips. — Massachusetts Agr. Coll. Exp. Circ. No. 5, 1916.
- 7 A. T. Erwin und W. L. Harter. A study of the onion industry in Pleasant Valley, Iowa. — Iowa Agr. Exp. Sta. Bull. No. 225, 1925.
- 8 P. J. Anderson. Controlling onion smut with kalimat. — Phytop. 14, 1924, 569—574. Referat von H. Eggebrecht in der Deutschen Landwirtschaftlichen Presse 52, 1925, 104.
- 9 48th Annual Report of the Ohio Experiment Station for 1928—1929. Ohio Agr. Exp. Sta. Bull. No. 446, 1930.

---

<sup>1)</sup> Wo ein Referat angegeben ist, wurde nur dieses eingesehen.

Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg.

Direktor: Prof. Dr. G. Bredemann.

## Beiträge zur Biologie von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus arenarius* L.

Von

Liselotte Bornhövd.

Mit 6 Textabbildungen.

Inhalt: 1. Einleitung. — 2. Krankheitsbild von *Elymus arenarius* L. hervorgerufen durch *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. — 3. Fundort von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. und Ausbreitung des Infektionsgebietes während dreier Jahre. — 4. Wachstum von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in der Wirtspflanze. — 5. Infektionsversuche. — 6. Biologie von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in künstlicher Kultur. — 7. Zusammenfassung und Be-  
sprechung der Ergebnisse. — 8. Schriftenverzeichnis.

### 1. Einleitung.

Im August 1932 wurde in der Lübecker Bucht bei Scharbeutz von Fräulein Margarete Osbahr ein Brandpilz auf *Elymus arenarius* L. gefunden, der nach dem Krankheitsbild der befallenen Pflanzen und dem Aussehen der Sporen als *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angesprochen wurde. Bei Durchsicht der einschlägigen Literatur ergab sich, daß über *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. noch recht wenig bekannt war, und da auch Zillig (1932) schreibt, daß eine eingehende biologische Untersuchung von *Ustilago hypodites* dringend erwünscht sei, wurde in vorliegender Arbeit der Versuch gemacht, Biologie und Infektionsverhältnisse dieses Pilzes zu klären.

1824 beschreibt Schlechtendal erstmalig Krankheits- und Sporenbild von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus arenarius* L. Er bezeichnet den Pilz aber noch als *Caeoma hypodites*, und erst 1832 wird er von Fries *Ustilago hypodites* benannt. Hierauf folgen zahlreiche Beschreibungen der verschiedensten Autoren, die sich teilweise aufeinander berufen, teils sich widersprechen, und die außer *Elymus arenarius* L. noch eine große Reihe anderer Gramineen als Wirtspflanzen angeben. Liro (1924, S. 88—99, 418—429) bringt eine Zusammenfassung aller bisher vorliegenden Angaben. Außer diesen von Liro zusammengefaßten Be-

---

Anmerkung: Erscheint zugleich als Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Hamburgischen Universität.

obachtungen liegen noch Angaben von Lindau und Kleebahn (1914), Reichert (1921), v. Kirchner (1923), Dietel (1928), Fischer und Gäumann (1929), Feucht (1930) und Zillig (1932) vor, die im Wesentlichen nichts Neues bringen. Aus den vorliegenden Angaben ergibt sich folgendes Bild: das Sporenbild der typischen *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr., also derjenigen auf *Elymus arenarius* L., ist 1824 von Schlechtenal beschrieben, doch weisen die übrigen Pilze, welche auf den bei Liro (1924) zitierten Wirtspflanzen schmarotzen und mit unter dem Namen *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. zusammengefaßt sind, erhebliche Differenzen in Sporenbild, -größe und -form auf. Ebenso herrschen bei ihnen bezüglich Dicke und Farbe der Sporenmembran starke Unterschiede. Über die Keimung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. berichten nur drei Forscher, Winter (1876), Brefeld (1883) und Eßmond (1893), und nur Winter hat dabei die Bildung von Sporidien am Promyzel beobachten können, das nach seinen Angaben mit einer oder mehreren Querwänden versehen ist. Über die Sporenbildung ist so gut wie nichts bekannt. Nach Meyen (1841) und De Bary (1853) haben die sporenbildenden Hyphen gallertartige schleimige Wände, und letzter, ebenso Maire (1907, s. Liro), hat beobachtet, daß die Sporen basipetal angelegt werden. Über den Infektionsvorgang weiß man nichts. Es wird angenommen (s. Liro 1924), daß das Myzel in den unterirdischen Pflanzenteilen perenniert. Über die Krankheitsscheinungen auf der Wirtspflanze liegen verschiedene Angaben vor, die sich teilweise stark widersprechen. Einige Autoren haben festgestellt, daß von *Ustilago hypodites* befallene Pflanzen höher werden als die gesunden, andere haben Verzwerfung beobachtet. An der kranken Pflanze sollen weit mehr Internodien und Blätter gebildet werden als an der gesunden. Die Wirtspflanze soll bei Brandbefall steril bleiben, jedoch manchesmal taube Ähren ausbilden. Die Brandlager entstehen an der freien Oberfläche der befallenen Pflanzenteile, nach Angabe einiger Autoren nur auf dem Stengel, nach Angabe anderer auch auf der inneren Epidermis der Blattscheiden. Liro (1924, S. 428) jedoch hegt Zweifel, ob die Brandlager von *Ustilago hypodites* ausschließlich auf der Oberfläche der Wirtspflanze gebildet werden. Weiter widersprechen sich die Autoren, indem teils berichtet wird, die Epidermis des Wirtes bleibe unter den Brandlagern völlig unversehrt, teils, die Wände der Epidermis und die Kutikula würden von Pilzhypfen durchbohrt.

Bis jetzt hat es den Anschein, als ob zu *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. eine Reihe von Pilzen gezählt werden, die zwar wohl im Sporenbild einige Ähnlichkeit aufweisen, in ihrer Biologie aber scharf zu trennen sind<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Touton (1927, S. 389) berichtet, daß die Sporen von *Ustilago hypodites* mehr oder weniger heftige Hautausschläge, lebhafte Konjunktivitis, heftige Rhinitis und akute Bronchitis hervorrufen. Verfasserin hat bei ihrer Arbeit mit diesen Sporen keine derartigen Erkrankungen feststellen können.

## 2. Krankheitsbild von *Elymus arenarius* L. hervorgerufen durch *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr.

Nach De Bary (1853, S. 10) zeichnen sich die brandkranken Schosse von *Elymus arenarius* L. „durch größere Höhe, zahlreichere kürzere Blätter und ein wenig aufgetriebene Blattscheiden aus“. Auch Magnus (1896, S. 318—320) stellte fest, daß die durch *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. erkrankten Pflanzen von *Elymus arenarius* L. beträchtlich höher sind als die gesunden. Magnus sagt weiter: „Die Internodien dieser Halme werden nach oben zu immer kürzer und die frei abstehenden Spreiten der Blätter immer kleiner . . . . Gewöhnlich erschöpfen sich die befallenen Halme mit der Anlage dieser immer kleiner werdenden Laubblätter, und man sieht dieselben, die schon von weitem durch die große Höhe auffallen, bis zu ihrer Spitze von den Laubblättern mit ihren abstehenden Spreiten besetzt.“ Hierzu im Gegensatz stehen Fischer v. Waldheim (1869), Griffiths (1892, s. Liro), Clinton (1904), Schellenberg (1911) und Feucht (1930), die durch Befall von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. bei *Elymus arenarius* L. und anderen Wirtspflanzen Verzweigung beobachtet haben. Eigene Beobachtungen bestätigen im Wesentlichen die Befunde von Magnus und De Bary. Schon Ende Mai bis Anfang Juni, wenn sich *Elymus arenarius* L. zum Schossen anschickt, konnte in der Lübecker Bucht bei Scharbeutz festgestellt werden, daß verschiedentlich Schosse aus dem allgemeinen Bewuchs von *Elymus* herausragen. Diese Schosse sind zwar im ganzen etwas verdickt, aber nicht so keulig angeschwollen wie die Schosse der gesunden Pflanzen. Es kommen nämlich in ihnen keine Ähren zur Entwicklung, sondern nur Laubblätter. Aus diesem Grunde werden im folgenden diese kranken Schosse als „Blattschosse“ bezeichnet (Abb. 1). Magnus (1896) und Schellenberg (1911) geben zwar an, daß auch bei erkrankten Pflanzen Infloreszenzen gebildet werden, in Übereinstimmung mit Braun (1854), Rostrup (1913), Dietel (1828) und Lind (1913) wurden aber bei eigenen Versuchen während dreier Vegetationsperioden bei krankem *Elymus* nur „Blattschosse“, also sterile Triebe, gefunden.

Befreit man den Stengel der jungen „Blattschosse“, die in den Jahren 1933 und 1934 zuerst Ende Mai auftraten, von den umhüllenden Blattscheiden, so weisen sie eine weit größere Zahl von Internodien auf als die gesunden Halme. Die Internodien werden zur Spitze hin immer dünner und schlaffer, das letzte hat ungefähr die Dicke einer Ährenspindel. Das zweite oder dritte Internodium, vom Grunde des Halmes aus gerechnet, ist entweder mehr oder weniger dicht mit senkrecht verlaufenden strichförmigen Sporenlagern bedeckt, oder es zeigt an seinem unteren Ende je nach Alter des „Blattschosses“ einen dichten, anfangs weißen, später olivgrünen und schließlich schwarz-braun werdenden Belag, der zum folgenden Knoten hin stärker und dunkler wird und am

Knoten jäh abbricht. Jedes Internodium hat also an seinem Grunde die jüngsten, an seinem oberen Ende die ältesten Sporenlager. Der Knoten ist frei. Jedoch das folgende Internodium weist in etwas schwächerer Ausbildung denselben Belag auf, der folgende Knoten ist wieder frei davon. So geht es fort bis zur Spitze des Halmes. Die jüngsten Internodien erscheinen bisweilen im Mai—Juni noch gesund, doch tritt mit zunehmendem Alter auch hier die Infektion zutage, wie das Krankheitsbild etwa Juli—August beweist. Im August, wenn bei gesunden *Elymus*-



Abb. 1.

a von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. befallener *Elymus arenarius* L. mit „Blattschossen“,  
b gesunde Pflanze mit jungen Ähren. Mai—Juni.

pflauzen die Ähren reifen, fangen auch die „Blattschosse“ an, gelb zu werden. Sie sind auch jetzt noch zirka 10—20 cm höher als die entsprechenden Ähren gesunder Pflanzen, oftmals jedoch umgeknickt, so daß sie, obgleich länger, die Ähren der gesunden Pflanzen nicht überragen. Diese zu beträchtlicher Länge ausgewachsenen erkrankten Halme haben an Stelle der Ähre eine große Anzahl zur Spitze hin immer kleiner werdender Laubblätter ausgebildet, deren Blattscheiden bisweilen ein wenig aufgetrieben erscheinen. Die Blattspreiten stehen ungefähr im Winkel von  $45^{\circ}$  vom Halme ab, so daß der ganze Sproß ein sparriges Aussehen erhält. Feucht (1930, S. 5) gibt eine Abbildung von *Bromus erectus* Huds. befallen von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr., welche dasselbe Krankheitsbild zeigt, nur wird, wie gesagt, nach meinen Beobachtungen

bei *Elymus* im Gegensatz zu *Bromus* der kranke Schoß höher als der gesunde. Im oberen Drittel des kranken Schosses sind die Internodien im August zum Teil frei von den umhüllenden Blattscheiden und mit braun-schwarzer Sporenmasse bedeckt, die bei trocknem Wetter leicht verstäubt. Zu dieser Zeit, etwa August—September, ist das Krankheitsbild am charakteristischsten. Jedem aufmerksamen Beobachter fällt der veränderte Habitus der kranken *Elymus*-Pflanzen sofort auf.

Feucht (1930) berichtet, daß das Sporenpulver bei *Bromus erectus* Huds. nach Aufplatzen der Blattscheiden frei wird. Das konnte bei *Elymus arenarius* L. niemals beobachtet werden, sondern die Sporen gelangten nur dann ins Freie, wenn entweder das Internodium sich streckte und aus den Blattscheiden hervorsah, oder wenn Wind und Wetter die Blätter und Blattscheiden zerzaust und vom Halme losgerissen hatten. Ja, in der Regel bleibt ein großer Teil der Sporen den Winter über zwischen Halm und Blattscheide stecken, um erst im späten Frühling, zusammen mit den ganzen trockenen Halmen, abgerissen und bei Zerfall des Halmes frei zu werden. Durch diesen Umstand kann man im Frühling noch frisches, keimfähiges Sporenmaterial vom Vorjahr sammeln. Die kranken Pflanzen sind auch dann noch leicht zwischen den gesunden herauszufinden.

Ebenfalls konnte nicht festgestellt werden, daß die Sporenlager mit Schwielen aufbrechen, wie Magnus (1896) beobachtete, wovon im folgenden noch zu sprechen sein wird.

### 3. Fundort von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. und Ausbreitung des Infektionsgebietes während dreier Jahre.

Vorstehende Beobachtungen wurden an der Ostsee in der Lübecker Bucht bei Scharbeutz gemacht. Leider war in der Nähe Hamburgs nur dieser eine Fundort bekannt, und trotz eifrigen Suchens konnte *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. weder an *Elymus*-Beständen bei Cuxhaven noch auf anderen bei Liro (1924) aufgeführten Wirtspflanzen gefunden werden. Ebenso war während der Versuchsjahre 1932 und 1933 auf Helgoland und Sylt kein erkrankter *Elymus* festzustellen, auch 1935 auf Spiekeroog nicht. Auf Rügen bei Göhren am Südstrand wurden dagegen im Juli 1933 von Fräulein Brüllau vereinzelt *Elymus*-Pflanzen gefunden, die von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. befallen waren.

Drei Jahre hindurch wurde der *Elymus*-Bestand der Lübecker Bucht unter Beobachtung gestellt, um ein eventuelles Anwachsen des Infektionsgebietes festzustellen. Die Infektion ist innerhalb dieser drei Jahre in der Richtung von Scharbeutz nach Timmendorf, und vielleicht auch nach Haffkrug zu, weiter fortgeschritten.

Von Niendorf kommend findet man die ersten brandigen Halme am Ausgang von Timmendorf direkt vor dem „Hotel zur Kammer“ (Befund

vom 15. August 1934). Von nun an treten bis zur Landungsbrücke Scharbeutz mit zunehmender Häufigkeit kranke Pflanzen auf. Das Hauptinfektionsgebiet liegt zu beiden Seiten der Landungsbrücke Scharbeutz. Von hier aus klingt die Häufigkeit des Brandbefalls allmählich ab bis zur Gösebeck, einem kleinen Flüßchen am Eingange von Haffkrug. In ganz Haffkrug ist der Bewuchs von *Elymus arenarius* L. nur recht spärlich, infolgedessen findet man dort auch nur ganz selten einmal einen brandigen Halm. Die beiden Jahre vorher, 1933 und 1932, war hier überhaupt kein Brand zu entdecken. Das Auftreten der Krankheit in Haffkrug im Jahre 1934 kann drei Ursachen haben. 1. Die Infektion hat auch in Richtung Haffkrug weiter um sich gegriffen oder 2. sie ist 1932 und 1933 infolge des spärlichen Auftretens der *Elymus*-Pflanzen nur nicht sichtbar geworden. Es ist nämlich gut möglich, daß sich die kümmerlichen Pflanzen am Strande von Haffkrug nur selten zum Blühen anschicken, wie auch schon das äußerst seltene Auftreten von gesunden Ähren beweisen mag. Da die Sporenbildung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. aber nur auf den Stengeln der Schosse erfolgt, die sich infolge des Pilzbefalls in „Blattschosse“ verwandeln, so bleibt beim Nichtschossen der Pflanzen natürlich auch die Krankheit latent. 3. besteht die Möglichkeit, daß die brandigen Pflanzen in Haffkrug 1932 und 1933 infolge ihres spärlichen Auftretens übersehen worden sind.

#### 4. Wachstum von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in der Wirtspflanze.

Zur besseren Kontrolle der einzelnen Krankheitsstadien, und um dauernd frisches Material bei der Hand zu haben, wurden im Spätherbst 1932 eine Anzahl infizierter Pflanzen von *Elymus arenarius* L. von Scharbeutz nach dem Botanischen Garten in Hamburg verpflanzt. Am neuen Standorte, an welchem die äußeren Bedingungen wie Bodenbeschaffenheit, Temperatur, Windstärke usw. vollkommen andere waren als die vom natürlichen Standort, traten im Krankheitsbild keinerlei Veränderungen zu Tage. Nur die „Blattschosse“ traten 1933 und 1934 im Garten etwa zwei bis drei Wochen früher auf als am Strande, was wohl mit der günstigeren Witterung im geschützten Garten zu erklären ist<sup>1)</sup>.

Von diesem Material, und ab und zu zur Kontrolle von frisch geernteten Pflanzen vom Strande, wurden Schnitte angefertigt, um das Wachstum des Pilzes im Wirt zu verfolgen.

Sämtliche Schnitte wurden nach Klebahn (siehe Lepik 1928, S. 870) gefärbt, mit Baumwollblau GBBB in Laktophenol zur Hyphenfärbung und mit Orange G in Nelkenöl zur Kontrastierung.

---

<sup>1)</sup> Nach Abschluß vorliegender Arbeit, Mitte Juni 1935, wiesen diese Pflanzen im Botanischen Garten gegenüber den Vorjahren einige Veränderungen auf: der Befall von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. war bedeutend zurückgegangen. Ebenfalls unterschied sich die Höhe der kranken Pflanzen kaum mehr von derjenigen der gesunden.

Lind (1913), Plowright (1889), Berkley und Broome (1850) (siehe Liro 1924, S. 427), Fischer v. Waldheim (1869), Rostrup (1913) und Feucht (1930) berichten vom Perennieren des Myzels von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. im Rhizom der Nährpflanzen. Auch die *Elymus*-Pflanzen im Botanischen Garten in Hamburg waren drei Jahre hindurch brandig, ohne daß eine Neuinfektion hätte stattfinden können, da außer diesen befallenen Pflanzen im weiten Umkreise kein *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. vorhanden war.

Ergänzende Schnitte durch Rhizom und Wurzel der Wirtspflanze zeigten teils vereinzelte gemmenartige Myzelstückchen, teils starke Anhäufungen von Pilzmyzel im Gewebe. Es wiesen aber auch Kontrollschnitte von gesunden Pflanzen zuweilen in den unterirdischen Teilen Pilzhyphen auf. Also ist das Auftreten von Hyphen in den unterirdischen Organen von *Elymus arenarius* L. kein absoluter Beweis für den Befall und damit für das Perennieren von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr.

Immerhin besteht wohl die Annahme des Perennierens zu Recht, wie einerseits das alljährliche Auftreten des Pilzes an derselben Pflanze beweisen mag, andererseits findet man in Wurzelschnitten von erkrankten Pflanzen viel häufiger Pilzmyzel als in solchen von gesunden.

Das Myzel von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. wächst im Frühsommer mit den Schossen empor und aus nicht aufgeklärten Gründen wahrscheinlich ausschließlich in diesen, denn bei zahlreichen Quer- und Längsschnitten durch Sprosse und „Blattschosse“ derselben Pflanze, die z. T. mit dem Mikrotom (Paraffineinbettung) ausgeführt wurden, wurde stets nur Myzel in den „Blattschossen“ gefunden. Auch konnten niemals brandige Sprosse oder Blätter gefunden werden.

Weitere mikroskopische Untersuchungen ergaben, daß im Halmgewebe der „Blattschosse“ das Myzel von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. am häufigsten in der ersten und zweiten Zellschicht des Halmes auftritt, vereinzelt aber auch tiefer im Innern des Halmes. Es wächst sowohl inter- wie intrazellulär. Sehr oft ist es stark gewunden und knäulig verdickt, an den dicksten Stellen 2–3  $\mu$  breit. Zellwände sind nicht immer deutlich zu erkennen. In den Halmknoten findet man nur wenige gemmenartige Myzelstücke.

In der Außenwand der Epidermiszellen der Internodien dicht unter der Kutikula oder etwas tiefer in den Epidermiszellen selbst bilden die Hyphen ein mehr oder weniger zusammenhängendes Netz. Von hier aus

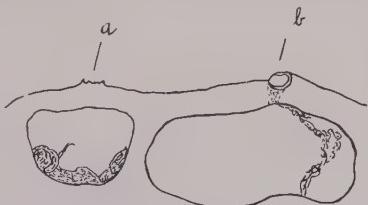


Abb. 2.  
Durchbohrungsstelle  
einer sporenbildenden Hyphe von  
*Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in  
der Außenwand der Epidermis  
von *Elymus arenarius* L.  
a von der Seite  
b in der Aufsicht.  
Vergr. 1700 fach.

werden senkrecht zur Wachstumsrichtung des Halmes Hyphenäste gebildet, die die Kutikula bzw. die äußere Zellwand durchbrechen (Abb. 2, 3, 4) und später außerhalb des Wirtes zur Sporenbildung übergehen. Die Epidermis des Halmes bleibt also nicht unzerstört, wie Meyen (1841) und De Bary (1853) behaupten, sondern die Ansicht Fischer v. Waldheim's (1869) und Dietel's (1897, s. Liro) besteht zu Recht, die schon das Durchbrechen der Hyphen durch Epidermis und Kutikula beobachtet

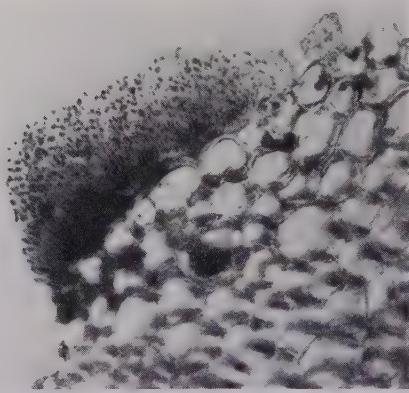


Abb. 3.

Querschnitt durch ein junges (unreifes, weiß-grünlichgraues) Sporenlager von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf dem Halm von *Elymus arenarius* L. Die Hyphen haben die Kutikula durchbrochen und sich zur Sporenbildung angeschickt.  
Vergr. 280 fach.

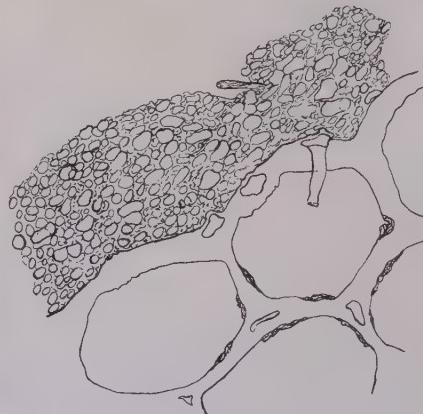


Abb. 4.

Wie Abb. 3, aber schräger Schnitt durch das Sporenlager, daher der anscheinend körnige Belag, der aus schräg und quer geschnittenen sporenbildenden Hyphen besteht.

Vergr. 1200 fach.

haben. Meyen (1841, S. 123) hat allerdings auch im Innern der Epidermis „kleine, fadenförmige und verästelte Ablagerungen einer schleimartigen Masse“ gesehen, sie aber nicht als Ausgangshyphen der nach außen gelangenden sporenbildenden Äste identifizieren können. Er gibt nur noch an, daß es bei *Elymus* niemals zur Ausbildung von Brandbläschen, also Sporen, im Innern der Pflanze kommt.

Wischt man den Sporenstaub vom Stengel ab, so scheint makroskopisch die Oberfläche in der Tat unversehrt. An jedem Querschnitt unter dem Mikroskop aber sieht man den ausgezackten und durchlöcherten Rand der Epidermis. Die Zacken kommen dadurch zustande, daß die Hyphen unterhalb der Kutikula verlaufen und die sporenbildenden Äste diese durchbrechen, um nach außen zu gelangen.

Will man den Verlauf der Sporenbildung beobachten, macht man am besten Querschnitte durch Internodien, auf denen der Sporenbefall noch weiß-hellgrün ist. In der Regel bekommt man dann eine mehr oder

weniger dicke Schicht einer körnigen Substanz zu Gesicht (Abb. 4), die der Epidermis aufliegt und oftmals den ganzen Halmquerschnitt umgibt. Schon De Bary (1853) ist diese körnige Substanz aufgefallen. Sie besteht aus sporenbildenden Hyphenästen, und ihr körniges Aussehen röhrt entweder daher, daß man die Hyphen durchschnitten hat, weil sie meistens miteinander verschlungen sind und nicht genau senkrecht zum Halm wachsen; bisweilen aber zerfallen die Hyphen auch spontan in kleinere, mehr oder weniger runde Abschnitte, die allmählich zu Sporen heranreifen. Nur ganz selten gelingt ein Schnitt, an dem deutlich zu sehen ist, daß die Sporen basipetal angelegt werden, wie schon Meyen (1841), De Bary (1853) und Fischer v. Waldheim (1869) zu berichten wissen (Abb. 3). Gallertartige, schleimige Wände bei sporenbildenden Hyphen, wie sie Meyen (1841) und De Bary (1853) gesehen haben, konnten nicht gefunden werden. Allerdings sind die sporenbildenden Hyphen, wie oben schon erwähnt, vielfach miteinander verschlungen und machen so den Eindruck einer kompakten Masse, die evtl. Verschleimung vortäuschen kann.

Die Sporenbildung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf der Wirtspflanze geht also folgendermaßen vor sich: Vom Myzel im Innern des Stengels ausgehend wachsen Hyphenäste durch Epidermis und Kutikula hindurch und gehen außerhalb des Stengels zur Sporenbildung über. Dabei können entweder die ganzen Hyphen spontan in einzelne Abschnitte zerfallen, die allmählich zu Sporen heranreifen, oder, wie es meistens geschieht, die Hyphen schnüren zuerst an ihrem oberen Ende Abschnitte ab, die sich abrunden und allmählich braune Färbung annehmen. Nach und nach schreitet die Sporenbildung weiter zum Grunde der Hyphen fort und findet ihren Stillstand, wenn die Hyphen vollkommen aufgebraucht sind.

In Schnitten von Material, in dem die Sporenbildung auf diese Weise vor sich gegangen ist, findet man auf der Epidermis übereinander alle Stadien der Sporenreife. Am weitesten entfernt von der Kutikula liegen die reifsten Sporen, die jüngsten sind der Kutikula am nächsten. Oftmals sind sogar noch kurze Hyphenstummel erkennbar, die aus dem Halm herausragen (Abb. 3). Aus dieser Darstellung geht schon hervor, daß die Sporenlager nicht, wie Magnus (1896) angibt, mit Schwielen aufbrechen, denn sie sind ja von keinerlei Gewebe oder Häutchen bedeckt, sondern werden offen auf der Oberfläche gebildet. In der Regel werden strichförmige Sporenlager auf der Stengeloberfläche angelegt (Magnus 1896), wie man es an wenig befallenen Exemplaren oder an den untersten Internodien der Halme meist gut erkennen kann. Bei starkem Befall aber gehen die Lager ineinander über (Schlechtendal 1824, S. 2: „*Caeoma hypodites acervis distinctis nullis*“), so daß die Internodien rundherum von einer dichten Sporenmasse umgeben sind. Die Sporenmasse liegt eingepreßt zwischen Halm und Blattscheide; das hat De Bary (1853), Kühn (1859), Fischer v. Waldheim (1869), Frank

(1896), Schellenberg (1911), Reichert (1921), Fischer und Gäumann (1929) und Zillig (1932) in der Annahme bestärkt, daß die Sporen sowohl auf der Stengeloberfläche wie auch auf der inneren Epidermis der Blattscheiden gebildet werden. Tatsächlich findet die Sporenbildung aber ausschließlich auf der Stengeloberfläche statt, wie auch schon Fries (1832), Kickx (1867), Wolff (1874), Brefeld (1883), Winter (1884), Schröter (1889), Oudemans (1893), Clinton (1906), Jaap (1902, 1907—08), Migula (1910, 1917), Lindau (1912), Lindau und Klebahn (1914), Bubak (1916), v. Kirchner (1923), Sydow (1924), Dietel (1928) beobachtet haben. In seltenen Fällen kommt es vor, daß auch die Blattscheiden der „Blattschosse“ leicht infiziert sind. Dann kommen jedoch die Sporenlager stets auf der äußeren und niemals auf der inneren Epidermis zur Ausbildung. Sprosse, Blätter und Ähren wurden niemals brandig gesehen, desgleichen wurden auf den Halmknoten niemals Sporenlager beobachtet. Liro (1924, S. 89) beschreibt die reifen Sporen wie folgt: „Sporenmasse schwarzbraun, fast krustenförmig oder mäßig stäubend. Brandsporen ellipsoidisch, mehr oder weniger kugelig, 4—6  $\mu$  lang, 3—5  $\mu$  dick. Sporenmembran relativ dick, gelblich-bräunlich, glatt“. Dieser Beschreibung ist im allgemeinen nichts hinzuzufügen, doch ergaben Messungen am Material von Scharbeutz: Sporenlänge 3—5,5  $\mu$ ; für die Sporenbreite wurden dieselben Werte wie bei Liro (3—5  $\mu$ ) gefunden.

In Übereinstimmung mit Meyen (1841) und De Bary (1853) wurden im Sporenpulver verschiedentlich größere, zartwandigere, wasserhelle Zellen vorgefunden. Über ihre Entstehung und Bedeutung konnte nichts ermittelt werden.

Tatsächlich ist, was das Sporenbild anbelangt, *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus arenarius* L. nicht mit Sicherheit von *Ustilago longissima* (Schldl.) Meyen zu unterscheiden, was auch Liro (1924, S. 424) hervorhebt. Beim Identifizieren des Brandes sollte also niemals unterlassen werden, außer dem Sporenbild auch die Keimung der Sporen und die Krankheitserscheinungen an der Wirtspflanze eingehend zu studieren. Beides ist bei *Ustilago longissima* (Schldl.) Meyen vollkommen anders als bei *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr.

### 5. Infektionsversuche.

Liro (1924) zählt eine große Anzahl von Wirtspflanzen für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf. Er sagt aber selber (S. 424), daß die auf ihnen schmarotzenden Pilze erhebliche Differenzen in Bezug auf Sporenbild, -größe, -form und Dicke und Farbe der Sporenmembran aufweisen. Wahrscheinlich sind irrtümlicherweise eine Reihe verschiedener Pilze unter dem Namen *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. zusammengefaßt. Z. B. ist es gut möglich, daß zwischen *Ustilago longissima* (Schldl.) Meyen und *Ustilago*

*hypodites* (Schldl.) Fr. Verwechslungen vorgekommen sind wegen der großen Ähnlichkeit ihrer Sporen, denn *Glyceria fluitans* R. Br., die Wirtspflanze für *Ustilago longissima* (Schldl.) Meyen ist, wird bei Liro (1924) auch als Wirt für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angegeben, ebenso *Triticum repens* L., die Wirtspflanze von *Ustilago longissima* var. *dubiosa* Liro nova var. Auch meint Schellenberg (1911), daß *Stipa pennata* L. und *Triticum caninum* L. von verschiedenen Pilzen befallen werden, die allerdings im Sporenbilde übereinstimmen. Ebenso stellt Sydow (1924) zwei neue Arten auf, *Ustilago agrestis* Syd. nova spec. auf *Triticum repens* und *Ustilago amplexa* Syd. nova spec. auf *Diplachnes fusca*, die sonst zu *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. gezählt wurden. Selbst Brefeld ist bei *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. ein Irrtum unterlaufen. 1883 (S. 103) schreibt er: „*Ustilago hypodites* kommt auf vielen Gräsern vor, z. B. in der Umgegend von Berlin in großer Verbreitung auf *Elymus arenarius* L. Die Oberfläche der Halme ist von dicken Brandsporenmassen überzogen . . .“ 1912 (S. 22) nach einer Schilderung des Stengelbrandes von *Phalaris arundinacea*, verursacht durch *Ustilago echinata*, schreibt er weiter: „Ähnlich wie der Stengelbrand von *Phalaris* verhält sich auch der Brand von *Elymus arenarius*, der durch *Ustilago Ischaemi* (vergl. Band 5, S. 96, Taf. 11) verursacht wird, der Achsen und Blätter der Nährpflanzen befällt und sie in auffällige, schwarze Brandlager umwandelt . . .“ 1883 aber hat Brefeld *Ustilago hypodites* Schldl. und *Ustilago Ischaemi* Fuckel scharf getrennt, für erstere *Elymus arenarius* L., für letztere *Andropogon Ischaemum* L. als Wirt angegeben.

Maire hat 1917 die Vermutung geäußert, daß *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. wahrscheinlich mehrere biologisch scharf zu trennende Arten umfasse.

Um in diese Fragen Klarheit zu bringen, wurden in den Jahren 1933 und 1934 Infektionsversuche mit *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angestellt. Die Versuche wurden größtenteils im Freien gemacht, entweder auf dem Dachgarten des Instituts für angewandte Botanik (Hamburg), im Botanischen Garten (Hamburg) oder auf dem Versuchsfeld des Instituts für angewandte Botanik in Wulfsdorf bei Ahrensburg. Zum Teil wurde die Saat im Treibhaus in durchlochten Papptöpfen ausgesät und die jungen Pflänzchen mitsamt den Papptöpfen ins Freiland gesetzt.

#### a) Keimplingsinfektion.

Methodik: Die Körner wurden in eine wässrige Sporenaufschwemmung geschüttet und evakuiert, da auf diese Weise das Wasser mit den Sporen gut zwischen Spelze und Karyopse dringt. Das Evakuieren wurde folgendermaßen gemacht. Die wässrige Sporenaufschwemmung wurde in ein starkes Weckglas getan und dieses mit Deckel und zwei Gummiringen verschlossen. Zwischen die beiden Gummiringe wurde eine flache Düse gesteckt, die durch einen Druckschlauch mit einer einstufigen Röntgen-

pumpe von Arthur Pfeiffer, Wetzlar, D.R.P. verbunden war. Mit Hilfe von Pumpe und Düse wurde nun die Luft aus dem Weckglas herausgesogen, bis bei  $21^{\circ}$  ein im Weckglas befindliches Manometer 19,6 mm Hg-Druck aufwies = 0,4 mg O im Liter im wasserdampfgesättigten Raume. Darauf wurde die Düse mit einem Ruck zwischen den Gummiringen entfernt. Nachdem das Glas etwa zehn Minuten gestanden hatte, sodaß angenommen werden konnte, daß auch die Luft zwischen Spelze und Karyopse entwichen war, wurde es wieder geöffnet. Der Einheitlichkeit halber wurden die unbespelzten Gramineen ebenso behandelt, desgleichen die Kontrollen in reinem Leitungswasser. Nach dem Evakuieren wurde die Saat getrocknet und am nächsten Tage ausgesät. Die Körner waren dann über und über mit Sporen bedeckt, ebenso befanden sich reichlich Sporen zwischen Spelze und Karyopse.

#### Erste Versuchsreihe (1933).

*Elymus arenarius* L. wurde an sechs verschiedenen Daten im Abstand von 10 bis 14 Tagen ausgesät, um evtl. die beste Infektionszeit herauszufinden. Die Aussaat erfolgte in Töpfen auf dem Dachgarten. Es wurden jedesmal 50 Korn infiziert und 50 Korn Kontrolle ausgesät am:

25. März 1933	25. April 1933	nicht aufgelaufen
5. April 1933	6. Mai 1933	
18. April 1933	24. Mai 1933	

#### Zweite Versuchsreihe (1933).

Hierbei wurden 16 verschiedene Gramineen ausgesät, die alle von Liro (1924) als Wirtspflanzen für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. aufgezählt sind:

- |  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| 1. <i>Ammophila arenaria</i> Link.                         | 9. <i>Stipa sibirica</i> Lam.       |
| 2. <i>Brachypodium distachium</i> (L.) Roem. u.<br>Schult. | 10. <i>Stipa setigera</i> I. Presl. |
| 3. <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth                 | 11. <i>Stipa spartea</i> Trin.      |
| 4. <i>Elymus arenarius</i> L.                              | 12. <i>Stipa tenacissima</i> L.     |
| 5. <i>Elymus Canadensis</i> L.                             | 13. <i>Stipa tortilis</i> Desv.     |
| 6. <i>Stipa capillata</i> L.                               | 14. <i>Stipa viridula</i> Trin.     |
| 7. <i>Stipa papposa</i> Del.                               | 15. <i>Triticum caninum</i> L.      |
| 8. <i>Stipa pennata</i> L.                                 | 16. <i>Triticum rigidum</i> Schrad. |

Die Aussaaten wurden dreimal vorgenommen in Abständen von zirka einem Monat am: 4. April 1933, 24. April 1933, 26. Mai 1933. Jedesmal je Art 50 Korn, insgesamt also je Art 150 Korn. Bei der Aussaat vom 4. April 1933 wurden die jungen Pflänzchen erst im Treibhaus gezogen und mit den Papptöpfen später auf den Dachgarten gebracht. Am 24. April und 26. Mai 1933 wurde sofort auf dem Dachgarten ausgesät.

## Dritte Versuchsreihe (1934).

Hierbei wurde die Saat nicht evakuiert, sondern die Körner nur gut mit Sporen eingepudert. Die Aussaat erfolgte Mitte April 1934 ins Freiland auf dem Versuchsfeld Wulfsdorf. Folgende Gramineen, bei Liro (1924) als Wirtspflanzen für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angegeben (Ausnahme 42, 44, 47, 49), wurden infiziert und ausgesät:

- |   |   |
|---|---|
| 1. <i>Ammophila arenaria</i> Link.                          | 36. <i>Bromus unioloides</i> (Pal. Beauv.) Humb.<br>u. Knuth              |
| 2. <i>Ammophila arundinacea</i> Host.                       | 37. <i>Calamagrostis argentea</i> Lam. u. DC.                             |
| 3. <i>Alopecurus agrestis</i> L.                            | 38. <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth.                              |
| 4. <i>Alopecurus brachystachys</i> M. Bieb.                 | 39. <i>Elymus angustus</i> Trin.  |
| 5. <i>Alopecurus Gerardi</i> Vill.                          | 40. <i>Elymus arenarius</i> L.  |
| 6. <i>Alopecurus pratensis</i> L.                           | 41. <i>Elymus Canadensis</i> L.   |
| 7. <i>Brachypodium distachy whole</i> (L.) Roem. u. Schult. | (42. <i>Elymus carolianus</i> Walt.)                                      |
| 8. <i>Brachypodium pinnatum</i> (L.) P. Beauv.              | 43. <i>Elymus condensatus</i> I. u. C. Presl.                             |
| 9. <i>Brachypodium ramosum</i> (L.) Roem. u. Schult.        | (44. <i>Elymus curvatus</i> Piper)  |
| 10. <i>Brachypodium silvaticum</i> (Huds.) Roem. u. Schult. | 45. <i>Elymus Europaeus</i> L.  |
| 11. <i>Bromus abolinii</i> Drob.                            | 46. <i>Elymus giganteus</i> Vahl.<br>(47. <i>Elymus virginicus</i> Linn.) |
| 12. <i>Bromus albidus</i> M. Bieb.                          | 48. <i>Lolium perenne</i> L.  |
| 13. <i>Bromus arduennensis</i> Dum.                         | (49. <i>Puccinellia distans</i> Parl.)                                    |
| 14. <i>Bromus arvensis</i> A. u. G.                         | 50. <i>Sporobolus Indicus</i> (L.) R. Br.                                 |
| 15. <i>Bromus Benekeni</i> Syme                             | 51. <i>Stipa capillata</i> L.   |
| 16. <i>Bromus brachystachys</i> Hornung                     | 52. <i>Stipa formicarum</i> Del.  |
| 17. <i>Bromus cappadocicus</i> Boiss. u. Bal.               | 53. <i>Stipa gigantea</i> Lag.  |
| 18. <i>Bromus ciliatus</i> Guss.                            | 54. <i>Stipa Lagascea</i> Roem. u. Schult.                                |
| 19. <i>Bromus commutatus</i> Schrad.                        | 55. <i>Stipa Lessingiana</i> Trin. et Ruppr.                              |
| 20. <i>Bromus erectus</i> Huds.                             | 56. <i>Stipa sibirica</i> Lam.  |
| 21. <i>Bromus hordeaceus</i> Gmel.                          | 57. <i>Stipa spartea</i> Trin.  |
| 22. <i>Bromus inermis</i> Leyss.                            | 58. <i>Stipa tenacissima</i> L.   |
| 23. <i>Bromus lanuginosus</i> Poir.                         | 59. <i>Stipa tortilis</i> Desv.   |
| 24. <i>Bromus macrostachys</i> Desf.                        | 60. <i>Stipa viridula</i> Trin.   |
| 25. <i>Bromus madritensis</i> L.                            | 61. <i>Triticum caninum</i> L.  |
| 26. <i>Bromus maximus</i> Desf.                             | 62. <i>Triticum compositum</i> L.   |
| 27. <i>Bromus mollis</i> A. u. G.                           | 63. <i>Triticum cylindricum</i> (Host.) Ces.                              |
| 28. <i>Bromus patulus</i> Mert. u. Koch                     | 64. <i>Triticum dicoccum</i> Schrank                                      |
| 29. <i>Bromus pendulus</i> Schur.                           | 65. <i>Triticum durum</i> Desf.   |
| 30. <i>Bromus Popovii</i> Drob.                             | 66. <i>Triticum junceum</i> Koeler  |
| 31. <i>Bromus pubescens</i> K. Koch                         | 67. <i>Triticum monococcum</i> L.   |
| 32. <i>Bromus purgans</i> L.                                | 68. <i>Triticum ovatum</i> (L.) Gren. u. Godr.                            |
| 33. <i>Bromus purpurascens</i> Del.                         | 69. <i>Triticum spelta</i> L.   |
| 34. <i>Bromus rigidus</i> Rchb.                             | 70. <i>Triticum turgidum</i> L.   |
| 35. <i>Bromus sterilis</i> L.                               | 71. <i>Triticum ventricosum</i> (Tausch) Ces.                             |

Die Versuchsreihen 1 bis 3 ergaben keine Infektion. Ein Teil der Pflanzen brachte gesunde Schosse und Ähren hervor, die anderen wie *Elymus arenarius* L. der ersten Versuchsreihe; 1, 4, 6 bis 8, 10 bis 12, 14 (Zweite Versuchsreihe); 1, 4 bis 6, 8, 10, 12 bis 18, 20, 22, 37 bis 43, 46, 48 bis 58 (Dritte Versuchsreihe) kamen nicht zum Blühen. Ob in

ihnen die Krankheit latent ist, müssen, soweit die Pflanzen mehrjährig sind, die nächsten Jahre ergeben.

### b) Infektion junger Pflanzen (1934).

Methodik: Die unbehandelte Saat wurde in drei Abteilungen ins Freiland gesät.

1. Abteilung: für Infektion mit wässriger Sporenaufschwemmung.
2. Abteilung: für Infektion mit wässriger Aufschwemmung von Sporidien und Myzel.
3. Abteilung: Kontrolle.

Die Aussaat erfolgte Mitte April auf dem Versuchsfeld Wulfsdorf. Es wurden dieselben Arten ausgesät wie in der dritten Versuchsreihe der Keimlingsinfektion (siehe diese). Sporidien und Myzel entstammten Schrägkulturen auf Malzgelatine (20 % Gelatine, 5 % Malzextrakt).

Wenn die jungen Pflänzchen die ersten 1—3 Blätter entwickelt hatten, wurden die Sporen oder Sporidien mit einem Pinsel in die Nähe des Vegetationspunktes und in die Blattscheiden gebracht.

Nr. 4, 8, 39, 45, 50—60, 62 liefen nicht auf. An allen anderen trat keine Infektion zu Tage. Die meisten lieferten, wie bei den vorherigen Versuchen, gesunde Blüten, und 1—4, 10, 26, 27, 29, 31—34, 36, 38, 43, 48 blühten nicht.

### c) Knospeninfektion (1934).

Da Maire (Liro 1924, S. 427) von *Ustilago dactylidis* berichtet, daß sie die Knospen der Nährpflanze im Frühling infiziert, wurden im Januar 1934 von einer Exkursion aus Haffkrug *Elymus*-Pflanzen mitgebracht, die im Vorjahr gesunde Ähren hervorgebracht hatten. Bei diesen Pflanzen wurden alle unterirdischen Teile stark mit Sporen bepudert. Sie wurden dann in Töpfen gepflanzt, in denen Sand (ebenfalls aus Haffkrug) mit Sporen vermischt war. Die Töpfe wurden im Botanischen Garten eingegraben. Leider kamen diese fünf Pflanzen im Sommer 1934 alle nicht zum Schossen, so daß eine eventuelle Infektion noch nicht festgestellt werden konnte.

### d) Blüteninfektion (1933).

Methodik: Auf die Narben der Ährchen wurden mit einem feinen Pinsel entweder Sporen von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. aufgetragen oder Myzelstücke und Sporidien, die auf Malzgelatine (20 % Gelatine, 5 % Malzextrakt) gewachsen waren. Die so infizierten Ähren wurden darauf einzeln in Pergamintüten gesteckt, welche unten zugebunden wurden. Die Körner dieser Ähren wurden im Herbst geerntet, im Zimmer (zirka 20 °C) gelagert und im folgenden Frühling auf dem Versuchsfeld Wulfsdorf ins Freiland gesät.

Die zur Verfügung stehenden gesunden Pflanzen von *Elymus arenarius* L. im Botanischen Garten blühten weder im Sommer 1933 noch im Sommer 1934. Aus diesem Grunde ist an *Elymus arenarius* L. keine Blüteninfektion versucht worden.

Von den bei Liro (1924) angeführten Wirtspflanzen für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. stand nur *Brachypodium distachyum* (L.) Roem. und Schult. in gut blühendem Zustande im Botanischen Garten zur Verfügung. Sämtliche Ähren von fünf Pflanzen wurden mit Sporen und sämtliche Ähren von fünf weiteren Pflanzen mit Myzel und Sporidien infiziert. Die Körner dieser Ähren wurden im April 1934 in Wulfsdorf ausgesät und lieferten alle gesunde, kräftig blühende Pflanzen. Eine Infektion hatte also nicht stattgefunden.

Das Fehlschlagen der Infektionsversuche kann verschiedene Ursachen haben. Da das verwendete Pilzmaterial von befallenem *Elymus arenarius* aus Scharbeutz geerntet worden ist, müßte unter geeigneten Bedingungen eine Infektion von gesundem *Elymus* desselben Fundortes mit diesem Pilzmaterial stattfinden können. Sämtliche Versuchspflanzen vorliegender Infektionsversuche von *Elymus arenarius* L. haben noch nicht geblüht, es besteht also noch die Möglichkeit einer stattgefundenen Infektion, die bislang latent geblieben ist. Sollten die Versuchspflanzen sich späterhin als gesund erweisen, so sind entweder bei den Versuchen die äußeren Bedingungen schlecht gewählt gewesen, oder die Infektion findet auf eine andere Weise statt, als bei vorliegender Arbeit versucht worden ist (evtl. Blüteninfektion).

Von den anderen Gramineen, mit denen Infektionsversuche vorgenommen wurden, weiß man überhaupt nicht sicher, ob sie wirklich Wirt für die echte *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. sind. Vernachlässigt man jedoch diese Frage, so liegen die Verhältnisse ebenso wie bei *Elymus arenarius* L. Diejenigen, welche nicht zur Blüte kamen (siehe a zweite und dritte Versuchsreihe und b), können die Krankheit latent in sich tragen. Ebenso können auch hierbei schlecht gewählte Bedingungen von Einfluß gewesen sein. Hinzu kommt jedoch, daß man völlig im Unklaren darüber ist, ob bei *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. physiologische Rassen vorkommen. Dafür spricht die Tatsache, daß am Strande von Scharbeutz zwischen *Elymus arenarius* L. viel *Ammophila arenaria* Link wächst, den Liro (1924) ebenfalls als Wirt für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angibt. Es wurde jedoch 1933 und 1934 keine einzige von *Ustilago hypodites* befallene *Ammophila*-Pflanze gefunden, obgleich sie vielfach mitten zwischen krankem *Elymus arenarius* L. standen.

Hieraus ergibt sich, daß es ratsam ist, zukünftige Infektionsversuche ausschließlich mit *Elymus arenarius* L. und dem hiervon geernteten Sporenmaterial von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. zu machen, und erst wenn man hierfür die Infektionsbedingungen gefunden hat, andere in der Li-

teratur für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angegebene Wirtspflanzen hinzuzuziehen. Allerdings werden voraussichtlich einige Jahre dabei vergehen, ehe man zu eindeutigen Ergebnissen kommt, da *Elymus arenarius* L. in den ersten Jahren garnicht und ältere Pflanzen nicht regelmäßig blühen.

## 6. Biologie von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in künstlicher Kultur.

Winter (1876) bringt als einziger außer Boss (vergl. S. 90—91) eine Beschreibung mit Abbildungen von der Keimung von *Ustilago hypodites* Fr., leider ohne Angabe der Wirtspflanze und des Nährmediums. Nach ihm berichtet Brefeld (1883), daß die Sporen von *Ustilago hypodites* Schldl. leicht in Wasser auskeimen, in Nährösungen die Entwicklung myzelartig und sehr reich wird, Konidien aber in langen und zahlreichen Kulturen nicht auftraten. Essmond (1893) will bei der Keimung von *Ustilago hypodites* auf *Triticum repens* die Bildung kurzer Promycelien beobachtet haben. Fischer v. Waldheim (1869), Plowright (1889) und Winter (1876) konnten in späteren Versuchen die Sporen von *Ustilago hypodites* nicht zum Keimen bringen.

Auf Grund dieser ungenügenden Angaben schien es notwendig, umfangreiche Keimversuche mit *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. von *Elymus arenarius* L. auf künstlichen Nährböden anzustellen.

Das verwendete Sporenmaterial entstammte dem Fundort Scharbeutz und den in den Botanischen Garten (Hamburg) umgepflanzten *Elymus*-Pflanzen (siehe S. 74.).

Methodik: Die Sporen wurden in der feuchten Kammer auf einem Tropfen festen Nährboden oder in flüssigem Nährmedium im hängenden Tropfen ausgesät und Keimung und Weiterentwicklung mikroskopisch verfolgt.

Es wurden verschiedene Nährmedien verwandt, die alle gleich gute Erfolge zeitigten und auf denen der Pilz die gleiche Entwicklung zeigte.

1. Sandabkochung (250 g Seesand aus Scharbeutz + 300 ccm H<sub>2</sub>O dest., 1½ Stunde gekocht und filtriert).
2. Malzlösung (H<sub>2</sub>O + 3 % Biomalz).
3. Malzgelatine (20 bis 25 % Gelatine, 5 % Biomalz).
4. Malzagär (2 % Agar, 5 % Biomalz).
5. Malzagär (Bauch 1933) (3 bis 4 % Agar, 3 % Biomalz).
6. 1/2-D-Agar (0,3 % Dextrose, 0,4 % Pepton Witte, 0,3 % Fleischextrakt, 0,1 % NaCl, 1,6 % Agar in H<sub>2</sub>O).
7. Fleischextraktbouillon.

Im Anfang wurde der pH-Wert der Nährmedien nicht berücksichtigt. Da aber die Keimversuche viele Schwankungen zeigten — teils keimten die Sporen überhaupt nicht, teils zirka 50 % und teils nur zirka 1 bis 10 % —, wurden die Ursachen nachgeprüft. Es zeigte sich, daß diese Unregelmäßigkeiten auf Schwankungen im pH-Wert des Nährbodens zurückzuführen waren. Voraussetzung für 80 bis 90 %ige Keimung ist ein pH-Wert zwischen 6,5 bis 7,5, jedoch werden auch bei diesem pH-Wert

nicht immer gleich hohe Keimprozente erzielt. Eine 100 %ige Keimung konnte niemals beobachtet werden. In stark sauren und noch ausgeprägter in stark alkalischen Nährmedien keimen die Sporen von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. kaum oder garnicht.

Die Einstellung des gewünschten pH-Wertes der Nährmedien wurde mit den Reaktions-Folien nach Wulff D.R.P. (zu beziehen von F. und M. Lautenschläger G.m.b.H., München) vorgenommen. Die Einstellung erfolgte direkt vor Gebrauch der Medien, da das Sterilisieren den pH-Wert

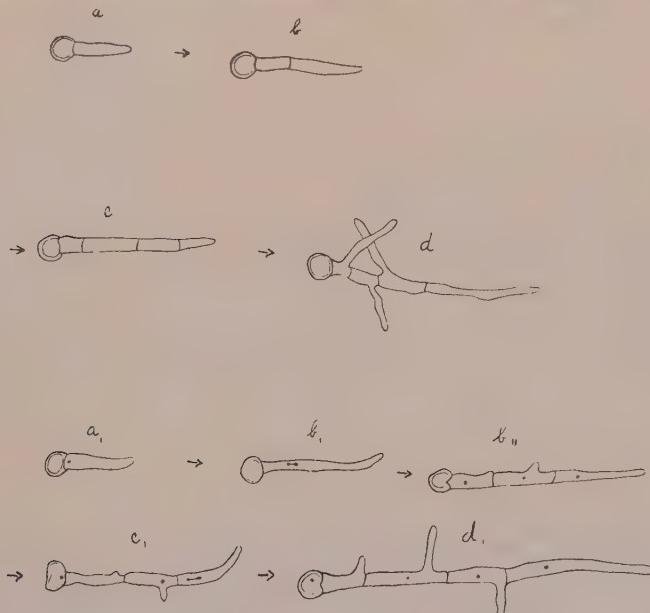


Abb. 5.

Typische Keimung mit vierzelligem Promyzel von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr.

a—d lebendes Material.

a<sub>1</sub>—d<sub>1</sub> Kernfärbungen an fixiertem Material.

Vergr. 780 fach.

verändert. Die Nährböden wurden mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  alkalisch gemacht bzw. mit  $\text{HNO}_3$  angesäuert.

Keimung im Wasser, wie Brefeld (1883) sie angibt, konnte nicht festgestellt werden. Beim Nachprüfen des Hamburger Leitungswassers ergab sich aber ein pH-Wert zwischen 6 bis 6,5. Zum Mangel an Nährstoffen gesellte sich hier also noch der ungünstige pH-Wert hinzu. Es wurde hingegen eine 1 bis 10 %ige Keimung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf Wasser und sogar destilliertem Wasser erzielt, wenn der pH-Wert mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  reguliert worden war. Diese Kulturen eignen sich jedoch nicht zur Weiterbeobachtung des Pilzes, denn das Myzel ist kümmerlich und oftmals anormal gekrümmt, auch werden wenig oder gar keine Sporidien und Luftkonidien gebildet.

Folgende Kardinalpunkte der Temperatur für die Keimung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. wurden festgestellt: Minimum um  $10^{\circ}$ , Optimum  $26^{\circ}$ — $29^{\circ}$ , Maximum  $34^{\circ}$ — $35^{\circ}$ .

Das Licht hat keinen Einfluß auf Keimung und Wachstum von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr.

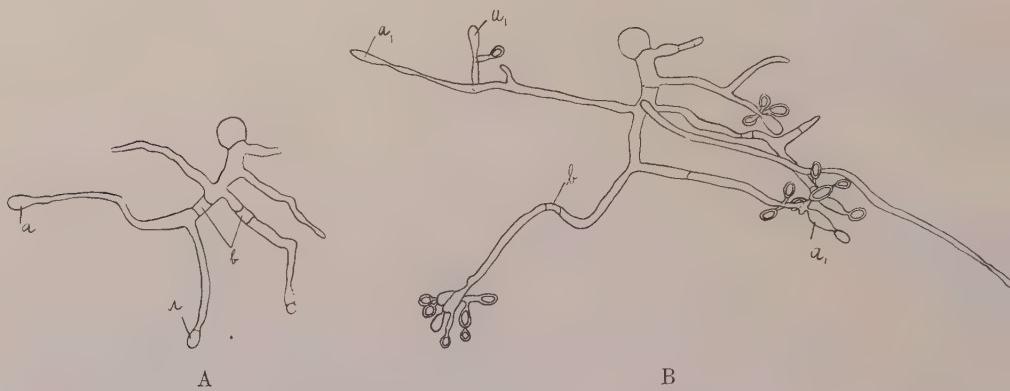


Abb. 6.

*Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. Entwicklung auf Sandabkochung.

A: nach 6 Tagen mit beginnender Sporidienbildung (a)

B: 24 Stunden später mit Luftkonidien, die doppelt konturiert erscheinen, und Sporidien (a<sub>1</sub>). b plasmaleere Hyphenabschnitte.

Vergr. 800 fach.

### a) Typischer Entwicklungsgang.

*Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. keimt ähnlich wie *Ustilago nuda* (Jensen) Rostrup (siehe Liro 1924, S. 495). Nach ein bis zwei Tagen beim Temperaturoptimum wird das Exospor vom Keimschlauch gesprengt, der anfangs fast so breit ist wie die Spore selbst. Dies berichtet schon Winter (1876). Der Keimschlauch streckt sich, und es wird ein typisches vierzelliges Promyzel gebildet (Abb. 5). Allerdings kommen Übergänge vor, so daß das Vier-Zellstadium nicht immer klar zu Tage tritt, denn oftmals werden schon Seitenäste angelegt, ohne daß Zellwandbildung im Promyzel vorangegangen ist. Im typischen Falle legen die drei untersten Promyzelzellen je einen Seitenast an, und die oberste Promyzelzelle wächst an der Spitze weiter, oftmals entstehen an den einzelnen Promyzelzellen auch mehrere Seitenäste. Die Seitenäste verzweigen sich weiter. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Winter (1876), der keine Verzweigungen gesehen hat. In Übereinstimmung mit Winter (1876) wurde beobachtet, daß sich das Plasma an manchen Stellen abschnürt und zwischen den einzelnen Plasmateilen plasmaleere Zellen entstehen. Der Hauptteil des Plasmas befindet sich bei älteren Stadien des Pilzes an den Enden der Verzweigungen. Diese plasmareichen Spitzen kammern beim Weiterwachsen hinter sich leere Zellen ab (Abb. 6), sie gleichen vollkommen

den haploiden Suchfäden, die im folgenden noch beschrieben werden. Nach einiger Zeit werden an den Hyphenenden und den plasmareichen Zwischenstücken des Myzels Sporidien gebildet, die an kurzen Sterigmen sitzen. Eine Sporidienbildung, wie Winter (1876) sie beschreibt und abbildet, konnte nicht beobachtet werden.

Sehr oft lösen sich die Sporidien nicht los, sondern wachsen noch fest sitzend zu Fäden aus, andere fallen ab, wachsen aber ebenfalls zu Fäden aus, die sich von neuem verzweigen und wieder Sporidien bilden. Da Winter (1876, S. 168) berichtet, daß am Keimschlauch „kurze, seitliche Ästchen“ gebildet werden, „die allmählich heranwachsen und an ihrer Spitze keulenförmig anschwellen“, sich dann seichte einschnüren und so zur Sporidie heranwachsen, lag der Gedanke nahe, daß die Seitenäste am Promyzel, von denen oben berichtet wurde, zu Fäden ausgewachsene Sporidien seien. Zahlreiche Beobachtungen an keimenden Sporen konnten jedoch den Winterschen Befund nicht bestätigen. Auch die jüngsten Anlagen von Seitenästen hatten niemals ein sporidienähnliches Aussehen.

Wachsen die Hyphen aus dem Nährmedium heraus, wozu *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. eine große Neigung hat, so entstehen an ihren Enden Luftkonidien (Abb. 6), wie sie Brefeld (1883, S. 14) beschreibt. Diese Luftkonidien gleichen im Wesentlichen den Sporidien. Ihre Wände erscheinen doppelt konturiert, doch ist das ein Trugschluß, der auf Lichtbrechung beruht. Bringt man nämlich eine Luftkonidie aus der Luft in ein Nährmedium, so zeigen ihre Wände dieselbe Beschaffenheit wie diejenigen der Sporidien. Die Luftkonidien entstehen in der Regel in dichten Büscheln an den Hyphenenden. Sie wachsen, wahrscheinlich infolge Nährstoffmangels, solange sie sich in der Luft befinden, niemals zu Fäden aus, jedoch strecken sie sich oftmals etwas, und aus ihnen sprossen weitere Konidien, die in der Regel kleiner sind als die zuerst gebildeten. Zum Schluß werden nur noch ganz kleine, rundliche Gebilde abgeschnürt. Dies ergibt eigenartige Bilder, die entfernt an Konidienbildung von *Penicillium* erinnern. Diese Büschel von Luftkonidien zerfallen selten ohne mechanischen Eingriff in ihre einzelnen Bestandteile. In ein Nährmedium hineingebracht, verhalten sich Luftkonidien genau wie Sporidien. Kulturen auf festen wie auf flüssigen Nährböden weisen alle einen dichten weißen Belag auf, der von diesen Luftkonidien herrührt.

Sporidienkopulationen konnten nicht beobachtet werden, dagegen wurden vielfach Hyphenfusionen bemerkt, die das Zweikernstadium herstellen, wie im folgenden noch besprochen werden wird. In älteren Kulturen treten die sogenannten „Suchfäden“ auf, wie Bauch sie 1923 für *Ustilago longissima* und *Ustilago longissima* var. *macrospora* und 1932 für *Sphacelotheca Schweinfurthiana* beschreibt.

In Kulturen auf Sandabkochung, die ein Vierteljahr bei zirka 30° stehen gelassen waren, traten Gebilde auf, welche Größe und Form von Brandsporen hatten, jedoch so hell wie Sporidien waren. Ob dies junge Sporen oder nur besonders große Sporidien gewesen sind, ließ sich nicht ermitteln. Wahrscheinlich aber waren es nur sehr große Sporidien, denn alle Zwischenstadien der Sporenreife, wie man sie auf der Wirtspflanze findet, fehlten.

Sporenbildung wurde in künstlicher Kultur niemals beobachtet.

### b) Kernverhältnisse.

Die Kernfärbungen wurden nach folgender Methode durchgeführt:

1. Fixierung nach Flemming-Benda
 

1 %ige Chromsäure . . . . .	15 ccm	}
2 %ige Osmiumsäure . . . . .	4 ccm	
Eisessig . . . . .	2—4 Tropfen	

Aqua dest. mehrmaliges Abspülen.
2. Äther-Zelloidin-Methode (Kniep 1921).
3. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain.  
24 Stunden in schwefelsaurem Eiseoxydammon.  
24 Stunden in Hämatoxylinlösung.

Bei der Keimung der Spore tritt der Kern meistens in das Promyzel, manchmal verbleibt er in der Spore. Er teilt sich in vier Tochterkerne, so daß ein vierzelliges Promyzel mit je einem Kern entsteht (Abb. 5). Oftmals folgen die beiden Kernteilungen so schnell aufeinander, daß zwischen den einzelnen Tochterkernen noch keine Zellwände gebildet sind, oder der eine Tochterkern teilt sich beim zweiten Teilungsschritt früher als der andere. So kommen dann anscheinend ein dreizelliges Promyzel und ähnliche Bildungen zustande. Die Kerne wandern entweder in die Seitenäste oder teilen sich und entsenden einen Tochterkern in den Seitenast, der späterhin vom andern Tochterkern durch eine Zellwand getrennt wird. Beim Weiterwachsen der Äste tritt wiederholt einfache Kernteilung verbunden mit Zellteilung ein, so daß sämtliche Hyphenzellen einkernig sind. Doch erfolgt auch hier beim schnellen Wachsen des Pilzes oftmals eine Kernteilung rasch auf die andere, so daß die dazugehörigen Zellwände noch fehlen. Die plasmareichen Spitzen kammern, wie schon erwähnt, leere Zellen hinter sich ab, die natürlich auch keinen Kern besitzen. Häufig bilden sich zwischen zwei Hyphenästen Verbindungsbrücken. Durch diese Brücke wandert der Kern der einen Hyphe in die andere über. Es entsteht so das Zwei-Kern-Stadium. Das nun zweikernige Ende der einen Hyphe wächst zu einem langen Faden aus und kammert wieder hinter sich leere Zellen ab, die plasmareiche, zweikernige Spitze bleibt einzellig. Es sind dies die von Bauch (1923) beschriebenen diploiden, besser gesagt dikaryotischen, Suchfäden. Nachdem diese Suchfäden eine bestimmte Länge erreicht haben, wachsen sie nicht weiter, sondern es

tritt wieder ein Zerfall in die Haplophase ein, wie sie auch Dickinson (1927) für *Ustilago levis* und *Ustilago hordei* und Bauch (1923) für *Ustilago longissima* (Sow.) Tul. und *Ustilago longissima* (Sow.) Tul. var. *macrospora* beschrieben haben. Von den beiden hintereinanderliegenden Kernen teilt sich der eine, und ein Tochterkern wandert zum Ende der Zelle hin. Zwischen den beiden Tochterkernen wird späterhin eine Zellwand gebildet, doch findet man sehr oft anscheinend dreikernige Zellen. Das sind solche Stadien, wo zwar die Kernteilung schon vollendet ist, die Zellwandsbildung aber noch nicht stattgefunden hat. Darauf teilt sich auch der zweite Kern, und ein Tochterkern wandert an das andere Ende der Zelle. Auch hier werden die beiden Tochterkerne durch eine Zellwand voneinander getrennt. Ist dieser Vorgang abgeschlossen, findet man eine zweikernige Zelle zwischen zwei einkernigen liegen. Beide einkernigen Enden oder auch nur eines wachsen nun genau wie vorher die zweikernige Hyphe zu beträchtlicher Länge aus, indem sie hinter sich leere Zellen abkammern. Sie stellen haploide Suchfäden dar, die ohne Kernfärbung von den dikaryotischen Suchfäden nicht zu unterscheiden sind und den vorher erwähnten lang ausgewachsenen Seitenästen vollkommen gleichen. Auch die haploiden Suchfäden fangen oftmals wieder an, Luftkonidien abzuschnüren. Eine Fusion zwischen den beiden haploiden Abkömmlingen einer dikaryotischen Zelle, wie Dickinson (1927) es beobachtet hat, konnte nicht festgestellt werden, doch ist die Möglichkeit einer solchen Fusion bei *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. vorhanden. Hyphenäste, welche nicht zur Fusion kommen, bilden Luftkonidien aus. Die Luftkonidien, ebenso wie die Sporidien, sind einkernig. Desgleichen weist die reife Spore nur einen Kern auf, der dieselbe Größe hat wie die Kerne der Hyphen, schätzungsweise  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$   $\mu$ . Die Behauptung De Barys (1853), daß der Kern den größten Teil der Spore ausfülle, besteht also zu Unrecht. Er hat wahrscheinlich das ganze Innere der Spore, welches heller ist als der Rand, für den Kern angesehen.

In künstlicher Kultur sind die oben beschriebenen diploiden Suchfäden die einzigen zweikernigen Organe. Sie bestehen nur aus einer einzigen Zelle, deren Zweikernigkeit durch Hyphenfusion entstanden ist. Diese zweikernige Zelle kann in künstlicher Kultur wahrscheinlich nicht weiter wachsen, d. h. sich teilen, sondern sich nur strecken oder vorwärtschieben (Suchfäden) und zerfällt, wie schon erwähnt, schließlich wieder in die Haplophase. Im Wirt müssen die Verhältnisse anders liegen, denn die jungen Sporen, die die körnige Masse auf den befallenen Halmen darstellen, sind zweikernig, und erst beim Heranreifen der Sporen verschmelzen die beiden Kerne. Die reife Spore ist also im Gegensatz zu Sporidien und Luftkonidien diploid. In der Wirtspflanze muß demnach ein dikaryotisches Myzel vorhanden sein, aus dem die Sporen hervorgehen. Ein dikaryotisches Myzel trat in den durchgeführten künstlichen Kulturen wahr-

scheinlich nur deshalb nicht auf, weil es zu seinem Wachstum gerade die Bedingungen nötig hat, die in der Wirtspflanze vorhanden sind, und die in ihren Einzelheiten nicht bekannt sind.

Kurz vor Abschluß der vorliegenden Arbeit wurde eine Arbeit von Boss (1927) gefunden, die Zillig (1932) nicht erwähnt. Hierin beschreibt Boss (S. 606—612) Keimung und Wachstum von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus europaeus* und *Triticum repens* und bringt einige Abbildungen (Abb. 8—10) über Sporenkeimung und Konidienbildung. *Elymus europaeus* Willd. ist synonym mit *Elymus arenarius* L. Dies geht aus der Boss-schen Arbeit nicht klar hervor. Da das von Boss verwendete Material aber nach seinen eigenen Angaben (1927, S. 607) aus dem Exsikkatenwerk von Zillig stammt, und in Nr. 24 des Exsikkatenwerkes Dr. H. Zillig, *Ustilagineen Europas*, die dort gesammelte *Ustilago hypodites* (Schlechtendahl) Fries von der Wirtspflanze *Elymus arenarius* L. stammt, hat Boss mit dem Brandpilz dieser Wirtspflanze gearbeitet. Boss beschränkt sich auf eine kurze Beschreibung des Wachstums von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus europaeus* und *Triticum repens* in künstlicher Kultur, ohne viel Einzelheiten zu erwähnen. Er berichtet, daß es ihm nicht gelang, die Sporen in Wasser zum Keimen zu bringen, jedoch erzielte er schon nach einem Tage Keimung, wenn er dem Nährboden 0,1—3% Malzextrakt hinzugab. Leider sagt er nichts weiter über Zusammensetzung und Reaktion der von ihm benutzten Nährmedien, auch bleibt die Keimtemperatur unerwähnt. Krankheitsbild und Wachstum des Pilzes im Wirt wird nicht beschrieben, er erwähnt nur, daß auf *Triticum repens* die jungen Sporen in einer gallertartigen, schleimigen Masse eingebettet liegen, und daß auf der Stengeloberfläche unter den Blattscheiden längere oder kürzere Streifen eines weißen Myzels zu finden sind, die beim Zerzupfen in einzelne Fäden isoliert werden können, welche eben beginnen, die jungen Sporenanlagen auszubilden. Er hat also die beginnende Sporenbildung beobachtet und hat wohl fälschlich bei *Triticum repens* die sporenbildenden Hyphen für eine gallertartige schleimige Masse angesehen. Er beobachtete ferner, daß die jungen Sporen noch zweikernig sind. Das Zustandekommen der Zweikernphase bei *Ustilago hypodites*, wie es in vorliegender Arbeit beschrieben worden ist, konnte er jedoch nicht ermitteln. Im Wesentlichen stimmen seine Beobachtungen mit den hier vorliegenden von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf *Elymus arenarius* L. überein, so daß auch der Brand von *Triticum repens* zur typischen *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. gehörig gerechnet werden kann. Allerdings konnte in vorliegender Arbeit niemals beobachtet werden, wie es Boss auf S. 608 angibt, daß bei Kulturen, die wenige Tage alt waren, ganz plötzlich an den Hyphen senkrecht zu ihrer Wachstumsrichtung kleine Ausstülpungen entstehen, die zu einer keulenförmigen Zelle anschwellen, und an deren Spitze eine längliche Konidie ausgebildet wird (Abb. 9a, S. 609). Es

traten auch in Kulturen der Verfasserin Sporidien oder Konidien auf, die anscheinend auf einem langen Stiele saßen. Dieser Stiel ist aber, in Übereinstimmung mit der Neigung der Sporidien, zu Fäden auszuwachsen, nach Meinung der Verfasserin eine zum Faden ausgewachsene Sporidie, die an ihrem Ende wieder Sporidien oder Luftkonidien abschnürt. An der Boss'schen Abbildung (Abb. 9 b) kann man auch gut noch an der Einschnürung des „Stieles“ die Form der ersten Sporidie erkennen. Hakenartige Gebilde, wie die Abbildung 9 a bei Boss (1927, S. 609) sie zeigt, wurden bei vorliegender Arbeit niemals gesehen.

### c) Einsporidienkulturen.

Um eventuelle Klarheit über die Sexualverhältnisse von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. zu bekommen, wurden Einsporidienkulturen angelegt. Die Methode der Sporidienisolierung machte anfangs Schwierigkeiten, da die Sporidien, wie schon erwähnt, häufig die Eigenschaft haben, noch festsitzend zu Fäden auszuwachsen. Ebenfalls ist es schwierig, durch Plattengüsse die einzelnen Luftkonidien zu isolieren, da sie, wie auch manchmal die Sporidien, zu mehreren oder in dichten Büscheln gebildet werden, die meistens nur durch mechanischen Eingriff voneinander getrennt werden können. Mit dem Mikromanipulator nach Chambers, E. Leitz, Wetzlar Nr. 195, jedoch gelingt es nach einiger Übung leicht, einzelne Sporidien oder Luftkonidien abzufischen. Die Angaben von Hanna (1928) waren dabei von großem Nutzen. Mit einer Glasnadel, deren Spitze etwa einen Durchmesser von  $10\text{ }\mu$  hatte, wurden die einzelnen Sporidien oder Luftkonidien aus einer Kultur in feuchter Kammer auf Malzagar nach Bauch (1933), pH-Wert = 7,5 abgefischt und unter mikroskopischer Kontrolle auf einen frischen Tropfen desselben Agars gebracht. Auf diese Weise wurden etwa 40 Einsporidienkulturen hergestellt. Die Sporidien wuchsen nur zu 50 % auf dem neuen Agartropfen weiter, so daß zum Schluß nur 20 Einsporidienkulturen zur Verfügung standen. Vielleicht waren die Sporidien beim Überimpfen zu sehr ausgetrocknet, obgleich sie bei einer Überimpfung im Höchstfalle fünf Minuten der Luft ausgesetzt waren.

Die abgefischten Sporidien und Luftkonidien wuchsen teils an beiden Enden, teils nur an einem fädig aus, verzweigten sich und bildeten nach ein bis zwei Wochen Luftkonidien aus. Sie unterschieden sich in nichts von den Mischkulturen. Das erwies sich auch, als die einzelnen Einsporidienstämme auf Agarplatten geimpft wurden, wie Bauch (1932) es bei *Sphacelotheca Schweinfurthiana* und 1930 bei *Ustilago longissima* gemacht hat. Makroskopisch konnte man weder verschiedene Geschlechter erkennen, noch unterschieden sich Einsporidienstämme von Mischkulturen. Das hat wahrscheinlich seinen Grund darin, daß *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. haploide Suchfäden ausbilden kann, die den dikaryotischen (bis auf die

Kernverhältnisse) vollkommen gleichen und doch nichts anderes sind als einfache lang ausgewachsene Hyphenäste. Auch konnten bei dieser Methode mikroskopisch wegen des dichten Hyphengewirrs in Mischkulturen keine Hyphenfusionen entdeckt werden. Es wurden nun sieben Einsporidienstämme im hängenden Tropfen von Malzlösung, pH = 7,5, gegenseitig abgetestet, d. h. je zwei Einsporidienstämme miteinander gemischt und ihr Verhalten mikroskopisch verfolgt. Im ganzen wurden also mit Kontrollen 49 Kulturen geprüft. Auch im hängenden Tropfen waren Hyphenfusionen sehr schwer zu entdecken. Sie konnten in verschiedenen Kulturen vereinzelt ermittelt werden, doch war ihr Auftreten regellos, so daß keine Rückschlüsse auf das Geschlecht der verwendeten Stämme gezogen werden konnten. Ob die Zahl der geprüften Einsporidienstämme zu gering gewesen ist, oder was sonst für Faktoren im Spiele waren, konnte nicht festgestellt werden, da eingehende Untersuchungen dieser Fragen den Rahmen vorliegender Arbeit überschritten hätten.

## 7. Zusammenfassung und Besprechung der Ergebnisse.

Durch den Befall von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. wird *Elymus arenarius* L. nach Beobachtung der Verfasserin um zirka 10 bis 20 cm höher als entsprechende gesunde Pflanzen. Dieselbe Beobachtung machten auch Magnus und De Bary im Gegensatz zu einer Reihe anderer Autoren, die bei Befall von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. Verzweigung der Wirtspflanze gesehen haben. Diese sich widersprechenden Angaben können einerseits darauf zurückzuführen sein, daß unter *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. eine ganze Reihe verschiedener Pilze zusammengefaßt worden sind (siehe Kapitel 5), die wahrscheinlich verschiedene Krankheitserscheinungen hervorrufen. Andererseits wäre es auch möglich, daß die typische *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. je nach der Wirtspflanze entweder Verzweigung oder Größenzunahme bewirken könnte, denn die Reaktion der einzelnen Wirte auf den Pilzbefall könnte verschieden sein.

Die von der Verfasserin beobachteten befallenen Pflanzen von *Elymus arenarius* L. weisen eine weit größere Zahl von Internodien und Laubblättern auf, als die gesunden. Die Laubblätter der kranken Pflanzen werden zur Spitze hin immer kleiner und stehen Ende August, wenn das Krankheitsbild am auffälligsten ist, ungefähr im Winkel von 45° vom Halme ab, so daß die ganze Pflanze ein sparriges Aussehen erhält. Die Sporenlager werden im Gegensatz zu Angaben verschiedener Autoren (siehe S. 108, Kapitel 4) ausschließlich auf dem Stengel des Schosses gebildet, der sich durch den Pilzbefall in den sogenannten „Blattschoß“ verwandelt.

Das erste Auftreten dieser „Blattschosse“ erfolgte in den Jahren 1933 und 1934 in Scharbeutz Ende Mai bis Anfang Juni. Am charakteristischsten ist das Krankheitsbild im August—September, wenn sich die Internodien der kranken Halme gestreckt haben, dadurch zum Teil

aus den Blattscheiden herausragen und über und über mit schwarzbraunem Sporenpulver bedeckt sind.

Infloreszenzen traten im Gegensatz zu Beobachtungen von Magnus und Schellenberg an kranken Pflanzen niemals auf. Ob die beiden Forscher Brandpilze beobachtet haben, die fälschlich zu *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. gezählt worden sind, oder ob doch bisweilen Infloreszenzen an Pflanzen auftreten können, die von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. befallen sind, müssen weitere Beobachtungen ergeben. Brandige Blätter oder Sprosse wurden von der Verfasserin niemals gefunden.

Der Bestand von *Elymus arenarius* L. im Infektionsgebiet der Lübecker Bucht wurde drei Jahre hindurch beobachtet. Es zeigte sich, daß die Infektion während dieser drei Jahre in Richtung Scharbeutz — Timmendorf, eventuell auch in Richtung Scharbeutz — Haffkrug, weiter um sich gegriffen hat.

Obgleich das Vorhandensein von Myzel von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in den unterirdischen Teilen von *Elymus arenarius* L. nicht einwandfrei nachgewiesen werden konnte, neigt die Verfasserin zu der Auffassung auf Grund eigener Beobachtungen und gestützt durch Befunde von Lind, Plowright, Berkley und Broome, Fischer v. Waldheim, Rostrup und Feucht, daß *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. in den unterirdischen Organen von *Elymus arenarius* L. perenniert. Das Myzel wächst im Frühsommer mit den „Blattschossen“ in die Höhe. Es wächst sowohl inter- wie intrazellulär. Die sporenbildenden Hyphen durchbrechen Epidermis und Kutikula und bilden die Sporen außerhalb des Wirtes auf der Stengeloberfläche. Die Ansicht Meyens und De Barys, daß die Epidermis unter den Sporenlagern unzerstört bleibe, ist wohl dadurch zu erklären, daß die beiden Forscher nach dem makroskopischen Bilde geurteilt haben müssen. Wischt man nämlich den Sporenstaub fort, so erscheint der darunter liegende Stengel makroskopisch vollkommen gesund. Daraus ergibt sich, daß die Sporenlager nicht mit Schwieien aufbrechen, und Magnus, der dies berichtet, hat sicher nicht die typische *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. beobachtet. Dagegen erscheint ein Aufplatzen der Blattscheiden beim Freiwerden des Sporenpulvers, wie Feucht es bei *Bromus erectus* Huds. (Kapitel 2) gesehen hat, gut möglich, nämlich dann, wenn sich die Internodien der befallenen Halme nicht strecken wie bei *Elymus arenarius* L. und der Raum zwischen Stengel und Blattscheide durch die immer neu gebildeten Sporen zu eng wird.

Die Annahme vieler Autoren, die Sporen würden auch auf der inneren Epidermis der Blattscheiden gebildet, erklärt sich nach Meinung der Verfasserin daraus, daß man nach dem makroskopischen Bilde geurteilt hat, das leicht irreführen kann, da die Sporen meistens fest zwischen Blattscheide und Stengel eingepreßt liegen.

Die Sporenbildung erfolgt basipetal und erreicht ihren Stillstand, wenn die sporenbildenden Hyphen außerhalb des Halmes aufgebraucht sind.

Bei eigenen Messungen wurden für die Sporenlänge von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. anstatt 4 bis 6  $\mu$  nur 3 bis 5,5  $\mu$  gefunden, wahrscheinlich beruht der höhere Wert auf Messungen an fälschlich zu dieser Art gezählten Pilzen.

Mit *Elymus arenarius* L. und einer Anzahl anderer Gramineen, die in der Literatur als Wirtspflanzen für *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. angegeben werden, wurden Infektionsversuche angestellt: 1. Keimlingsinfektion, 2. Infektion junger Pflanzen, 3. Knospeninfektion, 4. Blüteninfektion (nur mit *Brachypodium distachy whole* (L.) Roem. und Schult.) Sämtliche Infektionsversuche waren erfolglos oder führten doch, falls die Krankheit latent geblieben sein sollte, bis zum Abschluß der Versuche, April 1935, zu keinem Resultat.

Für Keimung und Wachstum von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. auf künstlichem Nährboden ist der pH-Wert und die Temperatur von entscheidendem Einfluß. Es ist ein pH-Wert zwischen 6,5 und 7,5 erforderlich. Das Temperaturoptimum liegt bei 26 bis 29°. Vielleicht ist es auf den Einfluß des pH-Wertes zurückzuführen, daß außer Boss nur drei Forscher von erfolgreichen Keimversuchen mit *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. berichten.

Die Keimung ist ähnlich wie bei *Ustilago nuda* (Jensen) Rostrup. Winter, dessen Aufzeichnungen über die Keimung von *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. bislang als Musterbeispiel galten, hat sicher nicht die typische *Ustilago hypodites* (Schldl.) Fr. beobachtet.

Einige Tage nach der Keimung werden Sporidien an kurzen Sterigmen und eine große Anzahl Luftkonidien ausgebildet. Die Sporidien wachsen wieder zu Fäden aus und verhalten sich genau wie das Ausgangsmyzel, ebenso verhalten sich die Luftkonidien, wenn sie aus der Luft wieder in ein Nährmedium gelangen, was in der Regel nur durch mechanischen Eingriff geschieht. In älteren Kulturen treten Suchfäden auf, wie auch sie bei *Ustilago longissima* (Sow.) Tul. und *Ustilago longissima* (Sow.) Tul. var. *macrospora* und Dickinson bei *Ustilago levis* und *Ustilago hordei* beobachtet haben.

Alle Zustände in künstlicher Kultur, bis auf die dikaryotischen Suchfäden, sind haploid. Die Diplophase der Suchfäden kommt durch Hyphenfusion zustande. Diese zweikernigen Suchfäden wachsen nicht weiter, sondern zerfallen nach einiger Zeit wieder in ihre haploiden Komponenten. So treten denn neben dikaryotischen auch haploide Suchfäden auf. Es ist wahrscheinlich, daß das dikaryotische Myzel nur bei den Bedingungen weiter wachsen kann, die es in der Wirtspflanze findet, und daß bei vorliegenden Versuchen in künstlicher Kultur diese Bedingungen nicht getroffen wurden. Auf der Wirtspflanze sind die jungen Sporen zweikernig.

Die Kerne verschmelzen beim Heranwachsen der Spore, so daß die reifen Sporen einen, aber diploiden, Kern besitzen, der genau wie die haploiden Kerne eine Größe von schätzungsweise  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2} \mu$  hat.

Es wurden 20 Einsporidienstämme isoliert. Diese unterschieden sich äußerlich in ihrem Wachstum nicht von den Mischkulturen. Bei gegenseitiger Abtestung traten Hyphenfusionen regellos auf, so daß keine Rückschlüsse auf das Geschlecht der einzelnen Stämme gezogen werden konnten.

---

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für angewandte Botanik in Hamburg ausgeführt.

An dieser Stelle möchte ich dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. G. Bredemann für die Förderung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Fräulein Privatdozent Dr. I. Esdorn unterstützte meine Arbeit durch wertvolle Anregungen und Ratschläge, wofür ich ihr herzlich danke. Gleichfalls sage ich Herrn Prof. Dr. H. Klebahn und Herrn Dr. Mäckel für ihre Hilfsbereitschaft meinen besten Dank.

## 8. Schriftenverzeichnis.

- Ascherson, P. und Graebner, P. Synopsis der mitteleuropäischen Flora. 1898 bis 1902, **II** (1. Abteilung), S. 2—789.
- Bauch, R. Über *Ustilago longissima* und ihre Varietät *Macrospora*. Zeitschrift für Botanik 1923, **15**, S. 241—279.
- Bauch, R. *Sphacelotheca Schweinfurthiana*, ein neuer multipolarer Brandpilz. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1932, **50**, S. 17—21, 1 Tafel.
- Bauch, R. Über multipolare Sexualität bei *Ustilago longissima*. Arch. Protstd. 1930, **70**, S. 417—466, Tafel 15.
- Bauch, R. Die Sexualität von *Ustilago scorzonera* und *Ustilago Zeae*. Phytopath. Zeitschrift 1933, **5**, S. 315—321, 4 A.
- Berkley, M. J. und Broome, C. E. Notices of British Fungi. Ann. and Mag. Nat. Hist. Ser. 2, 1850, **5**, S. 455—466.
- Boss, G. Beiträge zur Zytologie der Ustilagineen. Planta 1927, **3**, Abteilung E, S. 597—627, 20 Abbildungen.
- Braun, A. Über einige neue und weniger bekannte Krankheiten der Pflanzen, welche durch Pilze erzeugt werden. 1854, S. 1—31, 3 Tafeln, Berlin.
- Brefeld, O. Untersuchungen auf dem Gesamtgebiete der Mycologie. Brandpilze I. 1883, **5**, 103.
- Brefeld, O. Untersuchungen auf dem Gesamtgebiete der Mycologie. 1912, **15**, S. 1—151.
- Bubák, F. Die Pilze Böhmens II. Teil. Brandpilze (Hemibasidii). Archiv für naturwissenschaftliche Landesdurchforschung in Böhmen. 1916, **15** (3), S. 1—81, 24 Abbildungen.
- Clinton, G. P. North American Ustilagineae. Proc. Boston Soc. Nat. Hist. 1904, **31**, S. 329—529.
- Clinton, G. P. Ustilaginales in North America. Flora 1906, **7** (1), 82 S.
- De Bary, A. Untersuchungen über die Brandpilze und die durch sie verursachten Krankheiten der Pflanzen. 1853, 144 S., 8 Tafeln, Berlin.
- Dickinson, S. Experiments on the Physiology and Genetics of the Smut Fungi. Hyphal Fusion. Proc. Roy. Soc. London 1927, **101** (Ser. B), S. 126—136.
- Dietel, P. Ustilaginales in Engler-Prantl. 1928, **6**, 8.
- Essmond, W. Zur Ustilagineenflora des Slonimischen Kreises des Gouvernements Grodno. Scripta Bot. 1893, **4**, S. 17—24.
- Feucht, W. Morphologische Abweichungen an *Bromus erectus* verursacht durch *Ustilago hypodites*. Angewandte Botanik 1930, **12**, S. 1—16, 5 Figuren.
- Fischer, E. und Gäumann, E. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. 1929, 428 S., 103 Abbildungen, Jena.
- Fischer v. Waldheim, A. Beiträge zur Biologie der Entwicklungsgeschichte der Ustilagineen. Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik 1869, **7**, S. 61—144, Abbildungen 7—12.
- Frank, A. B. Die Krankheiten der Pflanzen. Pilzparasitische Krankheiten 1896, **2**, S. 112—113.
- Fries, E. Systema mycologicum 1832, **3**, S. 518.
- Griffiths, D. Concerning some West American Fungi Bull. Torrey Club 1902, **29**, S. 290—301.
- Hanna, W. F. A Simple Apparatus for Isolating Single Spores. Phytopathology 1928, **18**, S. 1017—1021.

- J a a p , O. Zur Kryptogamenflora der Insel Rön. Schriften des naturwissenschaftlichen Vereins Schleswig-Holstein 1902, **12** (2), S. 316—347.
- J a a p , O. Weitere Beiträge zur Pilzflora der nordfriesischen Inseln. Separat aus den Schriften des naturwissenschaftlichen Vereins Schleswig-Holstein 1907, **14** (1), S. 15—33.
- v. Kirch n e r , O. Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. 1923, 151 S., Stuttgart.
- K n i e p , H. Über *Urocystis Anemones*. Zeitschrift für Botanik 1921, **13**, S. 289—311.
- K i c k x , J. Flore cryptogamique des Flandres. 1867, 2, 490 S. Gand und Paris.
- K ü h n , J. Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verhütung. 1859, XXII und 312 S., 7 Tafeln, Berlin.
- L e p i k , E. Differential staining of *Peronosporaceae*. Phytopathology 1928, **18**, S. 869—872.
- L i n d , J. Danish Fungi. 1913, 650 S., 9 Tafeln. Kopenhagen.
- L i n d a u , G. Hemibasidii (Ustilagineae). Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. 1912, **5a** (1), S. 1—68.
- L i n d a u , G. und Kle b a h n , H. Pilze III. Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. 1914, **5a**, S. 23.
- L i r o , J. I. Die Ustilagineen Finnlands. 1924, **1**, S. 88—99 und S. 418—429.
- M a g n u s , P., Fungi. in G r a e b n e r , P. Zur Flora des Kreises Putzig (Westpreußen) und Lauenburg in Pommern. Schriften der Naturforscher-Gesellschaft in Danzig. 1896, **9**, S. 318—320.
- M a i r e R. Champignons Nord-Africains nouveaux ou peu connus. Bull. Soc. d'Hist. Nat. de l'Afrique du Nord 1917, **8**, S. 134—200.
- M e y e n , F. J. F. Pflanzenpathologie. Lehre von dem kranken Leben und Bilden der Pflanzen. 1841, 330 S., Berlin.
- M i g u l a , W. Die Brand- und Rostpilze. Handbuch für praktische naturwissenschaftliche Arbeit. 1917, **13**, 132 S.
- O u d e m a n s , C. A. J. A. Révision des Champignons tant supérieurs qu'inférieurs trouvés jusqu'à ce jour dans les Pays-Bas. Verh. Koninkl. Akad. Wetenschappen. 1893, **2** (II), S. 1—638.
- P l o w r i g h t , C. B. A Monograph of the British Uredineae and Ustilagineae. 1889, 348 S., 8 Tafeln, London.
- R e i c h e r t , J. Die Pilzflora Ägyptens. Botanisches Jahrbuch 1921, **56**, S. 598—727.
- R o s t r u p , E. Danish Fungi as represented in the Herbarium of E. Rostrup. 1913, 648 S., Kopenhagen.
- S c h e l l e n b e r g , H. C. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. (Die Brandpilze der Schweiz) 1911, **7** (2), S. 25—26.
- S c h l e c h t e n d a l , D. F. L. Flora berolinensis 1824. 2, XIV und 284 S.
- S c h r ö t e r , I. *Ustilaginei* in der Kryptogamenflora von Schlesien, 1889, **3**, S. 266—274.
- S y d o w , H. Notizen über Ustilagineen. Ann. mycol., 1924, **22**, S. 277—291.
- T o u t o n , K. Pseudophytogene und phytogene Berufs- und Gewerbedermatoseen. Dermatologische Zeitschrift. 1927, **49**, 385—405.
- T u l a s n e , L. Second Mémoire sur les Urédinées et les Ustilaginées. Ann. sc. nat. 1854, **2** (IV), S. 77—196.
- W i n t e r , G. Einige Notizen über die Familie der Ustilagineen. Flora, 1876, **59**, S. 145—152 und 161—172.
- W i n t e r , G., *Ustilagineae* in Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, 1884, **1** (!), S. 79—131.
- W o l f f , R. Der Brand des Getreides, seine Ursachen und seine Verhütung. 1874, S. 1—37. Halle.
- Z i l l i g , H. Ustilagineen (Brandpilze) aus Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 1932, **3**, S. 184—280.



Aus der Bayerischen Landesanstalt  
für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, München.

---

**Welke, Fußkrankheit und andere Schädigungen an Mais  
durch *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wilson.**

Von

K. Böning und F. Wallner.

Mit 7 Textabbildungen.

Im Sommer dieses Jahres trat auf dem Versuchsfeld der Landesanstalt in Nederling eine schwere Erkrankung an Mais (Sorte: Gelber Badischer) erstmalig auf, die bisher jedenfalls in Deutschland nicht beobachtet worden zu sein scheint und der auch in anderen Ländern kaum eine besondere Bedeutung zukommt, wenn auch der Erreger selbst wahrscheinlich schon wiederholt an Mais gefunden wurde. Merkwürdigerweise kamen von der gleichen Erkrankung befallene Maispflanzen aus dem Bezirk Pfaffenhofen zur Einsendung; sonstiges Vorkommen ist uns bisher nicht bekannt geworden. Es wäre möglich, daß die ungünstigen Witterungsverhältnisse dieses Frühjahrs — Nässe und Kälte im Mai, darauf unvermittelt einsetzende Hitze und Trockenheit —, die eine starke Hemmung der Jugendentwicklung des Maises verursachten, Veranlassung dazu gaben, daß die Erkrankung so stark in Erscheinung trat; denn auf Grund der Lebensweise des Krankheitserregers und des Umstandes, daß das befallene Feld mit in der eigenen Wirtschaft gewonnenem Saatgut bestellt wurde, muß angenommen werden, daß der Erreger hier auch schon früher vorhanden gewesen ist, ohne sich besonders auffällig bemerkbar zu machen. Wahrscheinlich kommt er auch anderwärts vor und dürfte mit der Zunahme des Maisanbaus voraussichtlich bei uns an Bedeutung gewinnen. Im folgenden seien daher die bisher gemachten Beobachtungen und das Ergebnis der Untersuchungen über die Krankheit mitgeteilt.

**1. Das Krankheitsbild.**

Die ersten Krankheitsmerkmale machten sich an den jungen Pflanzen durch Zurückbleiben im Wachstum und Abwelken der Blätter bemerkbar. Beim Herausnehmen solcher Pflanzen aus dem Boden erwies sich das Hypokotyl als braun verfärbt. Beim Durchschneiden des Bestockungsknotens waren vielfach ebenfalls braun verfärbte Partien, mitunter in

ringförmiger Anordnung, zu erkennen. Zumeist hatte die Bräunung auch auf die Wurzeln übergegriffen, auf die primären, am unteren Ende des Hypokotyls befindlichen sowohl als auch auf den weiter oben am Stengel befindlichen sekundären Wurzelkranz.

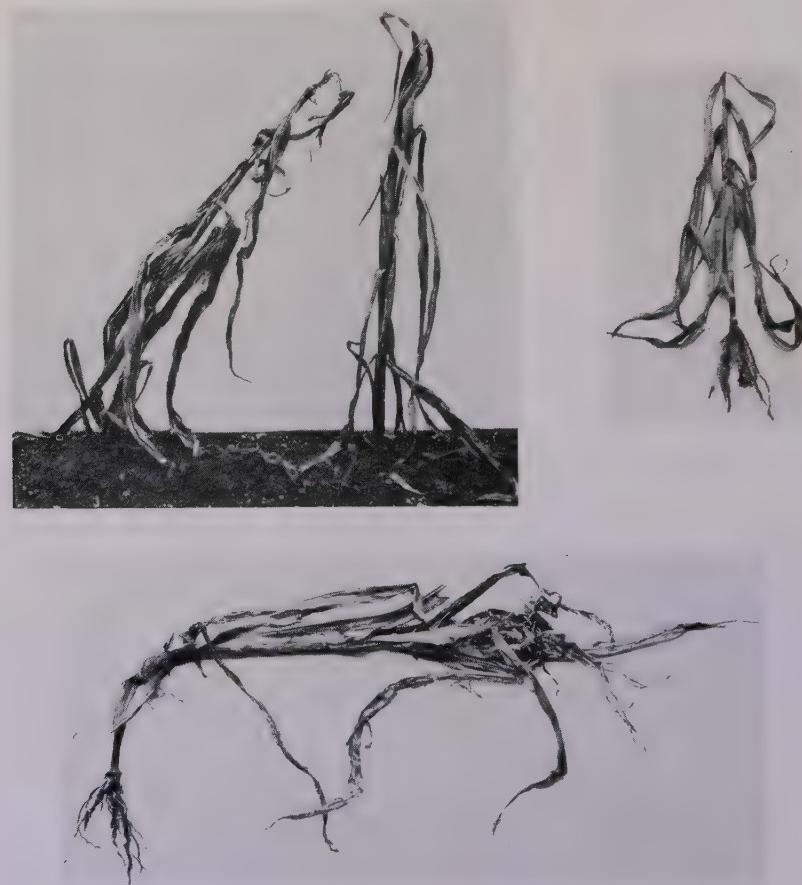


Abb. 1.  
Verwelkte und abgestorbene Maispflanzen aus dem Feldbestand;  
unten abgeknickte Pflanze.

Die mikroskopische Untersuchung erkrankter Pflanzen ergab, daß sämtliche äußerlich als befallen erkennbaren Teile vom Pilzmyzel durchwuchert waren. Im Bestockungsknoten war der Pilz sowohl im Stengel selbst als auch zwischen den Blattscheiden nachzuweisen. Die im Querschnitt schon mit bloßem Auge erkennbare Verfärbung rührte davon her, daß im befallenen Gewebe die Gefäßbündel besonders starke Veränderungen aufwiesen. Gefäße und Tracheiden waren mit einer braungelben oder rötlichbraunen gummiartigen Masse angefüllt, die Wände gebräunt, ohne

daß hier ein stärkeres Vorkommen von Pilzfäden bemerkt wurde. An weiter oberhalb des Bestockungsknotens ausgeführten Schnitten waren diese Merkmale, wenn auch in schwächerem Maße, immer noch deutlich festzustellen, ohne daß hier ein Pilzmyzel selbst schon aufzufinden war. Es scheint sich beim Auftreten der die Gefäße verstopfenden Massen um eine vielleicht durch vom Pilze ausgeschiedene Toxine verursachte Erscheinung zu handeln, die, da diese Stoffe vermutlich in den Gefäßen weitergeleitet werden, schon an Stellen auftreten kann, die der Pilz selbst noch gar nicht erreicht hat. Jedenfalls tritt die Bildung nur an befallenen Pflanzen auf und ist möglicherweise auch als Abwehrreaktion gegen die weitere Ausbreitung des Pilzes aufzufassen.

An den unterirdischen Teilen der Pflanze geht das Myzel verhältnismäßig selten zur Fruktifikation über, doch läßt es sich durch Verbringen



Abb. 2.

Stark befallene Pflanzenteile.

Links: Sproß mit Sporenlagern auf der Blattscheide.

In der Mitte: Schwarz verfärbter und geschrumpfter Stengelteil (Blattscheide auseinandergedrängt).

Rechts: Sporenlager auf den Hüllblättern des Kolbens.



Abb. 3.

Vom Pilz befallene und geschwärzte Maiskörner.

bedecken sich mit langen Reihen von schwarzen Pünktchen, die das unbewaffnete Auge an Schwärzepilze oder Teleutosporen lager eines Rostpilzes erinnern. In gleicher Weise werden auch die Hüllblätter der Kolben befallen, und zwar nicht nur die äußeren, sondern auch die inneren. Entweder von hier aus oder auch von dem den Kolben tragenden Stengel her geht der Pilz auch auf die Spindel und die Samen über, zum Teil wohl auch noch dann, wenn die Hüllblätter zum Trocknen zurückgeschlagen und damit die Kolben freigelegt werden.

Die Samen von befallenen Kolben zeigen vielfach eine vom Nabel ausgehende Schwärzung, die sich strahlenförmig über die Unterseite des Korns verbreitet.

in die feuchte Kammer dazu veranlassen. Sobald das Myzel jedoch die oberirdischen Stengelteile erfaßt hat, bilden sich hier bald die charakteristischen Sporenlager, die schon mit dem bloßen Auge als schwarze Pünktchen zu erkennen sind.

An den heranwachsenden Pflanzen eines erkrankten Bestandes findet man nun die verschiedensten Stadien der Erkrankung von leichtem vereinzelten Befall an Blättern und Stengeln bis zum völligen Verwelken und Absterben der ganzen Pflanze. Der Stengel verfärbt sich ganz oder teilweise schwarz und schrumpft ein. Die Pflanze bricht dann leicht um und vertrocknet. Blätter und Blattscheiden



Abb. 4.

Fußkranke Maissämlinge vom Infektionsversuch. Hypokotyl und primäre Wurzeln gebräunt und abgestorben, rechte Pflanze auch auf der Blattscheide befallen.

An der Oberseite, bzw. der äußereren Seite des am Kolben sitzenden Korns finden sich meist nur gelegentlich noch einzelne schwarze Pünktchen oder Strichel. Die Schwärzung röhrt von zum Teil oberflächlich aufliegendem, zum Teil auch in die Oberhaut eindringendem Pilzmyzel her. Gelegentlich fanden sich an den erkrankten Körnern typische Sporenlager mit Borsten; in anderen Fällen wurden nach dem Feuchtlegen Sporen gebildet oder kam grünlichgraues Luftmyzel zur Entwicklung. An zahlreichen Körnern konnte dagegen die Identität des vorhandenen Myzels mit dem Erreger der Maiskrankheit nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, vermutlich weil sekundäre Pilze, namentlich *Penicillium* und Bakterien, alsbald die Oberhand gewannen. Es war aber auch in diesen Fällen kein anderer Pilz aufzufinden, der die Schwärzung hätte verursacht haben können, so daß mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden darf, daß auch hierfür der gleiche Erreger in Frage kommt.

Jedenfalls hat die Untersuchung der Körner gezeigt, daß der Erreger der Maiskrankheit am Saatkorn vorkommt, und damit ist zugleich der lückenlose Entwicklungsgang der Krankheit klargestellt. Vom keimenden Korn geht der Pilz, wie schon beim ersten Auftreten auf Grund des Befundes vermutet und späterhin durch den Infektionsversuch bewiesen

wurde, zunächst auf das Hypokotyl über, dringt von hier aus abwärts in die primäre Hauptwurzel und aufwärts in den Bestockungsknoten ein und verbreitet sich von da aus weiter im Stengel, in den Blattscheiden und in den sekundären vom Stengel ausgehenden Wurzeln. An den oberirdischen Pflanzenteilen schreitet er alsbald zur Fruktifikation. Je nachdem es dem Pilz gelingt, den Bestockungsknoten früher oder später zu erreichen, und je nach der Entwicklungsgeschwindigkeit der Pflanze wird diese frühzeitig an der Basis völlig durchwuchert und damit tödlich erfaßt oder nur teilweise ergriffen, so daß es ihr noch gelingt, eine mehr oder weniger normale Höhe zu erreichen und zur Blüten- und Fruchtbildung zu gelangen. Trotzdem können auch solche Pflanzen noch im späteren Entwicklungsstadium so stark befallen werden, daß ein frühzeitiges Absterben eintritt. Erkrankte Pflanzen werden häufig noch sekundär von anderen Pilzen befallen; so kommen z. B. nachträglich Fusarien hinzu,

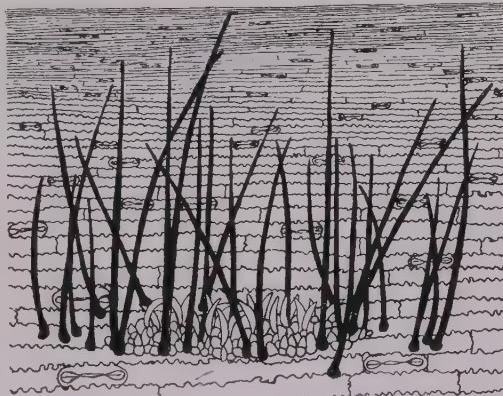


Abb. 5.  
Sporenlager auf dem Blatt.  
Übersichtsbild.

die sich mit Vorliebe an steckengebliebenen männlichen Blütenständen ansiedeln und eine echte Fusariose vortäuschen können.

## 2. Der Krankheitserreger.

Als Erreger der Krankheit wurde ein Pilz aus der Gattung *Colletotrichum* festgestellt. Die Konidienlager schwanken sehr in ihrer Größe; einzelne Lager an Blättern, Blattscheiden und Stengeln sind 510—860  $\mu$  lang und 190—250  $\mu$  breit, vielfach sind sie aber in langen Reihen angeordnet und gehen dann oft ineinander über, so daß noch größere Längenausmaße zustandekommen. Die Konidien sind in der Regel sichelförmig gekrümmt, an beiden Enden zugespitzt, gelegentlich finden sich auch gerade oder sonstwie abweichende Formen (s. Abb. 7). Ihre Länge beträgt 23,6—40,8  $\mu$ , ihre

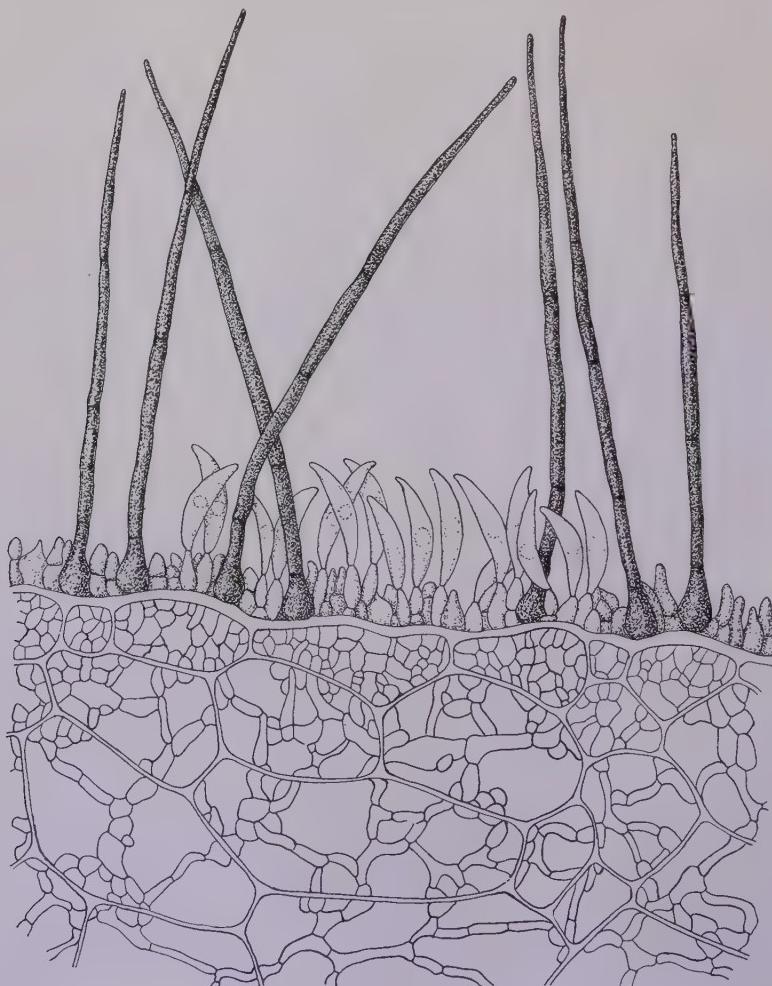


Abb. 6.  
Querschnitt durch ein Sporenlager.

Breite 4,3—6,5  $\mu$ . Sie sind hyalin, mit mehreren Öltropfen angefüllt, ältere Konidien sind stark vakuolisiert. Sie entstehen an dicht nebeneinander stehenden Trägern von 8,6—15  $\mu$  Länge und 4,3—11,9  $\mu$  Breite, die ebenfalls hyalin sind und Öltropfen enthalten. Borsten sind regelmäßig in größerer Zahl vorhanden, häufig randständig, braun bis schwärzlich gefärbt, mit 2—5 Septen und deutlicher am Fuß verbreiterter Basalzelle versehen. Ihre Länge schwankt zwischen 100 und 225  $\mu$ , die Breite zwischen 4,3 und 6,3  $\mu$ . Die Basalzelle mißt 6,4  $\times$  8,6  $\mu$ . Das Myzel wächst intrazellulär, ist meist farblos, hyalin oder auch bräunlich verfärbt.

In der Kultur auf Agar-Nährboden ist das Myzel anfangs weiß oder grauweiß, später wird es grünlichgrau, schließlich grauschwarz. Das oberflächlich und submers wachsende Myzel zeigt Verdichtungen dunkelgefärbter Hyphen mitunter mit rundlichen, kettenförmig aneinander gereihten Zellen chlamydosporenähnlichen Charakters. Auf solchen Myzelverflechtungen bilden sich auch Konidienlager mit Borsten, die bei der Reife sich mit rötlichem Konidenschleim bedecken. Die Konidienlager können auch auf koremienartiger Unterlage gebildet werden. Auf und im Nährboden entstehen ferner rundliche Pseudopykniden aus dicht verflochtenen, inhaltslosen graubraunen Hyphen, wie sie in ähnlicher Form auch bei *Colletotrichum Lindemuthianum* (10) auftreten. Auf Malzagar sowie auf Maiskörnern bildet sich reichliches watteartiges Luftmyzel von anfangs grünlichgrauer, später mausgrauer Farbe. Auf Bohnen- oder Lupinenagar ist das Myzelwachstum spärlich, eine Verfärbung tritt nicht ein. Dagegen werden zahlreiche bis 1 mm große Konidienlager gebildet, die sich mit lebhaft rot gefärbten Schleimtröpfchen bedecken.

Eine höhere Fruchtform des Pilzes (Peritheciens) konnte bisher nicht aufgefunden werden.

### 3. Zur Systematik des Krankheitserregers und seiner Verbreitung auch an anderen Wirtspflanzen aus der Familie der Gramineen.

Nach der vorliegenden Literatur scheint ein ähnlicher Pilz an Mais zuerst in Italien festgestellt worden zu sein. Er wurde von Cesati als *Dicladium graminicolum* bezeichnet und später von Wilson in *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wilson umbenannt, welcher Art eine ganze Reihe von ähnlichen an Gräsern gefundenen Pilzen von dem Autor zugeordnet wurde, von denen *Psilonia apalospora* Berk. et Curt. auch von Mais beschrieben ist. Ferner wurden, soweit wir bisher ermitteln konnten, an Mais noch beobachtet *Vermicularia relicina* Fries, *Vermicularia atramentaria* Berk. et Br., *Colletotrichum lineola* Corda und *Colletotrichum zeae* Lobik.

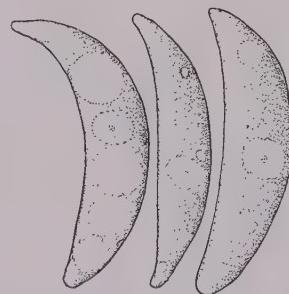


Abb. 7.  
Konidien des Pilzes  
von verschiedener Form.

Von diesen Pilzen haben wir *Vermicularia relicina* Fries in Fuckels *Fungi rhenani*<sup>1)</sup> nachgeprüft, konnten aber keine Konidien mehr auffinden. Der Pilz bildet auch keine echten Pykniden, die für die umstrittene Gattung *Vermicularia* charakteristisch sein sollen, sondern lediglich sklerotiale Gebilde mit Borsten, die vermutlich zu Unrecht als Fruchtgehäuse angesehen wurden. Der Pilz ist jedenfalls höchst unsicher, die für ihn angegebene Form der Konidienträger (1) erscheint unwahrscheinlich. *Vermicularia atramentaria*, welcher Pilz von Dickson (3) ebenfalls in die Gattung *Colletotrichum* übergeführt worden ist, wurde von Sydow in Saccardo (9) an Mais angegeben; da aber kein Nachweis erbracht worden ist, daß dieser sonst an Kartoffel vorkommende Anthraknoseerreger auch für Mais pathogen ist, dürfte eine nicht zutreffende Benennung vorliegen. Ebenso dürfte es sich mit *Colletotrichum lineola* Corda verhalten. Unter dieser Bezeichnung angeführte *Colletotrichum*-Pilze an Gramineen mit den Merkmalen von *Colletotrichum graminicolum* werden zweckmäßig ebenfalls dieser Wilsonschen Grundart zugewiesen. *Colletotrichum zeae* Lobik weicht nach der Beschreibung (7) durch die erheblich kleineren Maße und die länglich-ovale oder kurz-keulige Form der Konidien ab.

Weitere *Colletotrichum*- bzw. andere hierher zu stellende Arten mit sichelförmigen Konidien und ähnlichen sonstigen Eigenschaften sind zahlreich von anderen Getreidearten und Gräsern beschrieben; jedoch ist bisher nicht durch Versuche nachgeprüft worden, ob es sich tatsächlich um verschiedene Arten oder um ein und denselben Pilz handelt, obwohl gelegentlich über größere Anthraknoseschäden berichtet wurde<sup>2)</sup>. In der pflanzenpathologischen Literatur werden diese Schadpilze an Getreide gewöhnlich entweder unter der revidierten Bezeichnung von Wilson oder unter *Colletotrichum cereale* Manns aufgeführt. Die letztere Benennung entstammt einer Arbeit von Selby und Manns (11), die sich erstmalig mit der durch den Pilz hervorgerufenen Krankheit und ihrer wirtschaftlichen Bedeutung näher befaßt. Die beiden Autoren beobachteten Befall an Stengeln, Blattscheiden, Blättern, Ähren und Wurzeln, der zu Schwärzung der basalen Stengelteile und Taubährigkeit oder schwacher Kornausbildung namentlich an Roggen, Weizen und Hafer führte. Selby und Manns waren auch die ersten, die den Pilz auf verschiedenen Nährböden kultivierten und mit der Reinkultur erfolgreiche Infektionsversuche, allerdings nur mit Weizen, anstellten. Ferner wiesen sie die Übertragung der Pilzsporen mit dem Saatgut nach.

<sup>1)</sup> Sämtliches für die Untersuchungen herangezogenes Herbarmaterial entstammte dem Staatsherbar, München, dem wir auch an dieser Stelle unseren Dank für die freundliche Überlassung zum Ausdruck bringen möchten.

<sup>2)</sup> Namentlich aus den Vereinigten Staaten von Nordamerika, z. B. 1923 und 1924 von Mississippi (2, 8), 1924 und 1927 von Indiana (6), liegen diesbezügliche Mitteilungen vor.

Wilson (12) hat auf Grund morphologischer Übereinstimmung außer den schon oben genannten Arten *Dicladium graminicolum* Ces. (bzw. *Steirochaete graminicola* Sacc.) und *Psilonia apalospora* Berk. et Curt. noch die folgenden als synonym festgestellt: *Vermicularia culmigena* Cooke, *Vermicularia sanguinea* Ell. et Hals., *Vermicularia Lolii* Roum. bzw. Fautr., *Vermicularia Holci* Syd., *Colletotrichum lineola pachyspora* Ell. et Kell., *Colletotrichum Bromi* Jenn., *Colletotrichum sanguineum* Ell. et Hals. und *Colletotrichum cereale* Manns. Diese Liste läßt sich zweifellos noch erweitern. So nimmt Wilson zwar an, daß *Vermicularia culmigena* Desm. eine echte *Vermicularia* darstellt; wir konnten jedoch an europäischem Material ebenfalls keine Pykniden feststellen und glauben daher, daß auch diese Art anzuschließen ist. Ebenso dürfte es sich mit *Vermicularia graminicola* West. und *Vermicularia affinis* Sacc. et Br. verhalten. Weitere Gräser bewohnende *Vermicularia*-Arten sind jedenfalls unsicher, nachdem das Vorkommen echter Fruchtgehäuse für diese Pilze zweifelhaft ist<sup>1)</sup> und die Möglichkeit besteht, daß Pseudopykniden oder sklerotienähnliche Gebilde mit Sporenlagern und Borsten für echte Pykniden gehalten worden sind. Zu diesen Arten dürften zu rechnen sein: *Vermicularia culmifraga* Fries, *Vermicularia graminum* Bacc., *Vermicularia relicina* Fr., *Vermicularia Bohlenae* Bub., *Vermicularia Meliae* Fuck. und *Vermicularia graminella* Garb. (5). Außerdem gehören noch auf Grund der Diagnose wahrscheinlich ebenfalls morphologisch zu *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wils.: *Colletotrichum Lolii* (Fautr.) Zimm., *Colletotrichum Vermicularia* Sacc. et Dearn., *Colletotrichum Jaczewskii* Namys., *Colletotrichum andropogonis* Zimm., dagegen nicht *Colletotrichum falcatum* Went., der Erreger der Rotfäule des Zuckerrohrs<sup>2)</sup>.

Wie weit allerdings diese Zusammenlegung tatsächlich berechtigt ist, wird sich auf Grund der Reinkultur und wechselseitiger Übertragungsversuche auf verschiedene Wirtspflanzen nur noch für wenige Arten feststellen lassen. Es dürfte aber für die in Betracht kommenden Pilze zweckmäßig sein, an der morphologischen Grundart *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wils. festzuhalten, für die vorwiegend sichelförmige Konidien von etwa 15—40  $\mu$  Länge und 3—7  $\mu$  Breite und 50—200  $\mu$  lange (gelegentlich auch noch längere), meist septierte Borsten mit deutlicher Basalzelle charakteristisch sind. Innerhalb dieser Grenzen auftretende konstante Verschiedenheiten, ferner sonstige morphologische und physiologische Unterschiede und Abweichungen in der Wirtswahl sollten lediglich als Varietäten oder Formen behandelt werden. Tatsächlich bestehen

<sup>1)</sup> Man vergleiche hierzu die Ausführungen von Duke (4) über die Gattungen *Vermicularia* Fr. und *Colletotrichum* Corda, in denen die Zusammenlegung vorgeschlagen wird, da vermutlich ein und derselbe Pilz Veranlassung für die Aufstellung beider Gattungen war.

<sup>2)</sup> Dieser Pilz bildet wohl sichelförmig gebogene, aber an beiden Enden abgerundete Konidien, die nicht selten zu zweien kettenförmig aneinanderhängen, wie die Untersuchung der in Baarn befindlichen Reinkultur (isoliert von Mc Ray) ergab.

solche Verschiedenheiten. So weicht z. B. die in Baarn befindliche Kultur von *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wils. von der unseren im Wuchsbild und in der Myzelfarbe (gelbliches Myzel, das sich langsam bräunt) ab und scheint damit auch nicht mit der seinerzeitigen Kultur von Selby und Manns übereinzustimmen; wir möchten aber von einer Aufstellung von Varietäten absehen, solange uns kein genügendes Vergleichsmaterial verschiedener Herkunft des Pilzes an verschiedenen Wirten für eine genauere Untersuchung zur Verfügung steht. Wir geben daher als Erreger der Maiskrankheit nur die in Betracht kommende Grundart *Colletotrichum graminicolum* (Ces.) Wilson an und behalten uns vor, den Pilz gegebenenfalls als bestimmte Abart gegen andere abzugrenzen, falls weitere Untersuchungen dies als begründet erscheinen lassen.

#### 4. Impfversuche.

Zur Führung des Nachweises, daß der aus befallenen Pflanzenteilen isolierte Pilz auch tatsächlich der Erreger der Krankheit ist, wurden Versuche in  $40 \times 40 \text{ cm}^2$  großen Holzkästen angestellt. Hierzu wurde ein gesundes, von auswärts bezogenes Maissaatgut gewählt und zunächst in Schalen auf feuchtem Sand zur Keimung ausgelegt. Die Samen wurden nun zum Teil vor dem Auslegen mit einer Konidienaufschwemmung aus der Reinkultur des Pilzes bepinselt, zum Teil blieben sie unbehandelt. Die infizierten Körner wurden zur einen Hälfte nach erfolgter Keimung nochmals mit Konidien infiziert, zur anderen Hälfte unterblieb diese nachträgliche Beimpfung. Nachdem die Keimlinge etwa 5 cm lange Wurzeln gebildet hatten, wurden sie in die Kästen eingepflanzt. Die Hälfte der un behandelten Keimlinge wurde in Erde verbracht, die zuvor durch Vermischung mit einer Reinkultur des Pilzes infiziert worden war. Das Ergebnis des Versuches ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

**Samen- und Bodenimpfungsversuch mit *Colletotrichum graminicolum* an Mais.**

Nr.	Art der Infektion	Zahl der Pflanzen <sup>1)</sup>	Infektionsergebnis		Befall %
			befallene Pflanzen	stark befallene Pflanzen	
1	Samenkorn infiziert . . .	15	11	8	73
2	Samenkorn und Keimling infiziert . . . .	14	10	10	71
3	Samen nicht infiziert, Boden infiziert . . .	19	11	8	58
4	Samen und Boden un- behandelt . . . .	18	0	0	0

Schon die mit dem Pilz infizierten ausgekeimten Samenkörner waren von einem dünnen Myzelflaum überzogen, ohne daß indessen schon

<sup>1)</sup> Ursprünglich wurden allgemein 20 Keimlinge eingepflanzt. Einzelne Pflanzen sind während des Versuchs zur Untersuchung herausgenommen worden.

eine Erkrankung der jungen Keimlinge selbst festzustellen war. Die Sämlinge aus den infizierten Samen ließen bald nach dem Auflaufen eine gehemmte Entwicklung erkennen und blieben auch späterhin deutlich in der Entwicklung zurück. Es kam aber nicht zu Welkeerscheinungen, und auch ein stärkerer oberirdischer Befall der Pflanzen wurde nur an wenigen Pflanzen der infizierten Kästen beobachtet. Beim Abschluß des Versuches nach etwa 1½ Monaten waren die infizierten Pflanzen zum größten Teil an den unterirdischen Teilen befallen, das Hypokotyl und die primären Wurzeln waren in typischer Weise gebräunt, teilweise waren auch der untere Teil des Stengels und die sekundär gebildeten Wurzeln mehr oder weniger angegriffen. Die Sameninfektion ergab einen höheren Befall als die Infektion durch den Boden. Pflanzen aus unbehandeltem Boden blieben vollständig gesund und entwickelten sich auch allgemein viel kräftiger als infizierte Pflanzen. Der Nachweis des Pilzes an den befallenen Pflanzen konnte durch die Feststellung der Konidienlager an den erkrankten Teilen erbracht werden.

### 5. Bekämpfungsmöglichkeiten.

Versuche über die Bekämpfung der Krankheit wurden bisher nicht angestellt. Nachdem eine Übertragung des Erregers mit dem Saatgut stattfindet, wäre in erster Linie darauf zu achten, daß nur Saatgut von einwandfrei gesunden Beständen zur Aussaat kommt oder daß die Samen vor dem Auslegen gebeizt werden. Wie weit eine Beizung mit chemischen Mitteln allerdings wirksam ist, müßten erst genauere Versuche erweisen. Tritt die Krankheit in einem Bestande auf, so sollten die abwelkenden Pflanzen möglichst bald entfernt und vernichtet werden, damit die weitere Ausbreitung des Pilzes eingeschränkt wird. Bei stärkerem Befall dürfte es zweckmäßig sein, die Pflanzen gar nicht zur Samenreife kommen zu lassen, sondern grün zu ernten, zu verfüttern oder einzusäuern. Befallene Ernterückstände wären zweckmäßig zu verbrennen, da anzunehmen ist, daß durch das Unterpflügen eine Verseuchung des Bodens erfolgt. Zur Vermeidung einer Anreicherung des Erregers im Boden dürfte auch ein zu häufiger Anbau von Mais, wahrscheinlich auch von anderen Getreidearten zu unterlassen sein; jedoch ist es unmöglich, geeignete Vorschläge zu machen, ehe nichts genaueres über die Wirtswahl des Pilzes bekannt ist. Weiterhin käme vielleicht auch die Anwendung desinfizierend wirkender Düngemittel, wie Kalkstickstoff, auf verseuchten Böden in Betracht. Schließlich wäre die Anfälligkeit der Sorten zu prüfen. Jedenfalls dürfte die Krankheit bei weiterer Ausdehnung ein ernstes Problem darstellen, das eingehende Untersuchungen notwendig macht.

### Schriftenverzeichnis.

- 1 Allescher in Rabenhorsts Kryptogamenflora, I, Abt. VI. 1903.
- 2 Barker, H. D. und Neal, D. C., Plant diseases in Mississippi during 1923. Quart. Bull. State Plant Board Miss., III, 4, 13—33. 1924.
- 3 Dickson, B. T., Colletotrichum v. Vermicularia. Mycologia 17, 213—217. 1925.
- 4 Duke, M. N., The genera Vermicularia Fries and Colletotrichum Corda. Trans. Brit. Myc. Soc., 13, 156—184. 1928.
- 5 Garbowksi, L., Krankheiten der Kulturpflanzen usw. in Polen 1926/1927 (poln.). Arbeiten der phytopathologischen Abteilung des Landwirtschaftlichen Staatsinstituts in Bydgoszcz, 7. 1928.
- 6 Gardener, M. W., Indiana Plant diseases 1924. Proc. Ind. Acad. Sci. Vol. 35, 1925 und 1927. Vol. 38. 1928.
- 7 Lobik, A. J., Gegenwärtige Lage des Problems der Krankheiten und Beschädigungen an Mais im Nord-Kaukasus. Ber. d. Nord. Kauk. Pflsch. Inst. Rostoff a. Don., I (VIII), 2, 3—51. 1933.
- 8 Melchers, L. E., Diseases of cereal and forage crops in U S. A. 1924. Pl. Diseases Rep. Suppl., 44, 106—191. 1925.
- 9 Saccardo, Sylloge fungorum nebst Supplement-Bänden bis 1931.
- 10 Schaffnit, E. und Böning, K., Die Brennfleckenkrankheit der Bohnen. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten, I. Mitteilung 1925, 184 Seiten.
- 11 Selby, A. D. und Manns, T. F., New anthracnose diseases of certain cereals and grasses. Bull. Ohio Agr. Exp. St. 203, 187—211. 1909.
- 12 Wilson, G. W., The identity of the anthracnose of grasses in the United States. Phytopathology 4, 2. 1914.





Aus dem Forstbotanischen Institut  
der Bayerischen Forstlichen Versuchsanstalt in München.

Vorstand: Prof. Dr. E. Münch.

---

**Untersuchungen über Lärchen-, Apfel- und Buchenkrebs.**

Von  
**W. Langner**, Müncheberg.

Mit 6 Tabellen und 11 Textabbildungen.

Inhaltsverzeichnis: Einleitung. — I. Der Lärchenkrebs: A. Days Frostkrebstheorie; B. Die Pilzkrebstheorie; C. Eigene Beobachtungen. Annahme einer Wechselwirkung zwischen Pilz und Frost. D. Beweise für die Wechselwirkung zwischen Pilz und Frost: 1. Die Frostempfindlichkeit der E-Zone: a) Einwirkung künstlicher Kälte, b) Messung des osmotischen Wertes. 2. Die Verpilzung der verschiedenen Zonen. 3. Ergebnis. — E. Veränderungen im Rindengewebe durch den Pilz: 1. Zweck und Gang der Untersuchung; 2. Ergebnisse: a) Farbe der Auslaugungen, b) Gesamtdarrgewicht, Darrgewicht des Wasserlöslichen, Wassergehalt und Frischgewicht, c) Gerbstoffgehalt der Auslaugungen. 3. Die Bedeutung der Ergebnisse. — F. Gegenmaßnahmen der Pflanze: 1. Die Korkschicht. 2. Die Kampfzone. — G. Kennzeichnung der Wirkungsweise des Krebspilzes. — H. Notwendige ergänzende Versuche. — II. Einiges zum Apfel- und Buchenkrebs. — Zusammenfassung. — Benutztes Schrifttum.

**Einleitung.**

Die vorliegende Arbeit behandelt die Frage, ob und wie der Pilz *Dasyscypha Willkommii* am Zustandekommen des Lärchenkrebses ursächlich beteiligt ist.

Ausgangspunkt war eine Arbeit Days (1), in welcher der Frost als Hauptursache der Krebsbildung bezeichnet und die Vermutung ausgesprochen wird, daß der Pilz *Dasyscypha Willkommii*, der bisher als der Urheber des Lärchenkrebses angesehen wurde, nur sekundär und ohne Bedeutung für das Entstehen dieser Krankheit sei.

Dieser Befund Days wurde einer Prüfung unterzogen. Das Ergebnis dieser Nachprüfung wies auf die Notwendigkeit hin, von neuem die ganze Frage des Lärchenkrebses zu behandeln und insbesondere zu untersuchen, ob und wie von einer durch Krebsmyzel bereits besiedelten toten Rindenstelle aus der Pilz in das angrenzende lebende Gewebe vorzudringen vermag. Diese Versuche führten zu den nachstehend mitgeteilten völlig unerwarteten Ergebnissen.

Nebenher wurden in der gleichen Richtung auch Versuche mit Apfel- und Buchenkrebs ausgeführt. Diese lassen zwar keine endgültigen Schlüsse zu, scheinen aber doch mitteilenswert.

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde im Forstbotanischen Institut der Bayerischen Forstlichen Versuchsanstalt in München durchgeführt. Die weitere Ausarbeitung erfolgte in der Abteilung für Forstpflanzenzüchtung des Kaiser-Wilhelm-Instituts für Züchtungsforschung in Müncheberg.

Außer Herrn Prof. Dr. E. Münch-München, der mich mit dieser Untersuchung zur Ergänzung seiner Arbeiten über das Lärchensterben betraute, möchte ich an dieser Stelle noch Herrn Dr. W. von Wettstein-Müncheberg für das von ihm gezeigte Entgegenkommen danken, das mir ermöglichte, die Arbeit in Müncheberg zu beenden. Ferner danke ich Herrn Regierungsrat Dr. Wolpert-München für seine Hilfe bei der Beschaffung der Versuchsstücke und Herrn Oberforstsekretär Seewald-München für seine wertvolle Mitarbeit bei der Aufnahme der beigegebenen Lichtbilder.

## I. Der Lärchenkrebs.

### A. Days Frostkrebstheorie.

Die Frostkrebstheorie Days (1) besagt folgendes: Das Kambium erfriert besonders häufig um die Lang- und Kurztriebe herum im Frühjahr und Herbst wegen des dort besonders frühen Erwachens bzw. späten Auf-



Abb. 1.

Querschnitt durch einen sieben Jahre alten Lärchenkrebs.  
Erklärung im Text. Vergrößerung 5×. Die markierte Stelle im Jahresring der ersten Überwallung ist in Abb. 2 stärker vergrößert.

hören der Lebenstätigkeit. Diese erste Tötung des Kambiums durch Frost stellt den Beginn des Krebses dar. Da an jenen Frostwunden das Kambium ebenfalls die Eigenschaft hat, seine Lebenstätigkeit früher zu beginnen und später einzustellen als anderswo, so wiederholt sich an diesen Stellen das Erfrieren des Kambiums sehr oft und nicht selten alljährlich. Den regelmäßig auf den getöteten Rindenteilen vorhandenen Pilz

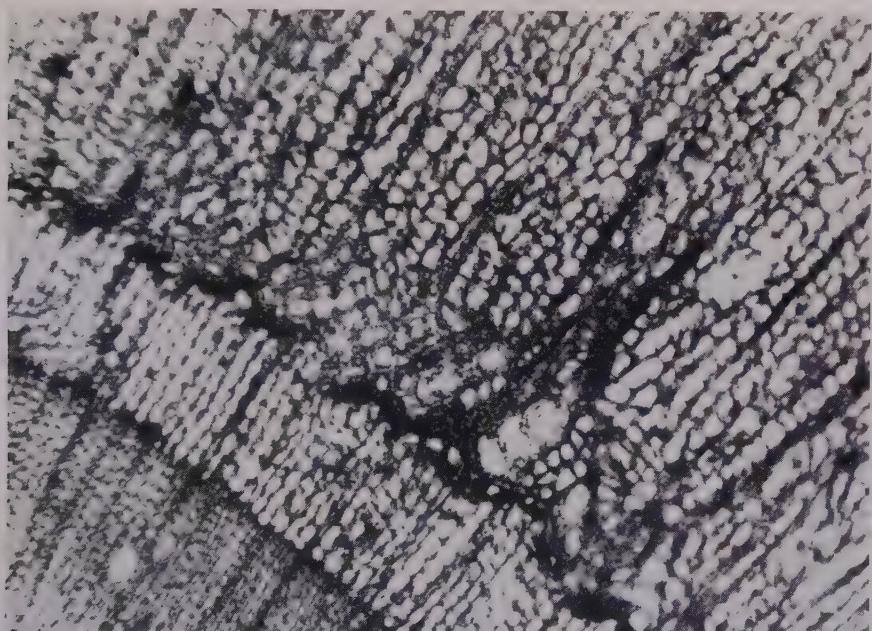


Abb. 2.

Die in Abb. 1 markierte Stelle im Frostring des ersten Krebsjahresringes stärker vergrößert.  
Vergrößerung 100  $\times$ .

*Dasyscypha Willkommii (calycina)* hält Day für nicht parasitisch und wahrscheinlich an dem Zustandekommen des Krebses unbeteiligt.

Daß tatsächlich der Beginn jedes Lärchenkrebses mit einer solchen Frostschädigung des Kambiums zusammenfällt, konnte Day an mehreren Querschnitten durch Krebsstellen zeigen. Regelmäßig wies der Aufbau des Jahresrings entweder im ersten Frühholz oder im späteren Herbstholz starke Störungen in Form von sog. Frostringen auf, und alljährlich wiederholten sich dann diese Erscheinungen immer wieder. An Hand von Wetteraufschreibungen konnte Day diese Schädigungen auf bestimmte Früh- und Spätfröste zurückführen.

Dies Ergebnis Days konnte ich auf Grund von Untersuchungen an einer großen Zahl der verschiedensten Lärchenkrebsen vollauf bestätigen. Abb. 1 stellt einen Querschnitt durch einen sieben Jahre alten Krebs dar

und zeigt deutlich die erwähnten Störungen dieser Jahre, in diesem Falle im Frühholzgewebe, sowie den besonders gut ausgeprägten Frostring im Jahre der ersten Überwallung. Abb. 2 gibt stärker vergrößert ein Bild von dem Aussehen dieses Frostringgewebes.

Trotz dieser Bestätigung des Dayschen Befundes konnte ich mich der von ihm ausgesprochenen Vermutung, daß der Krebspilz an dem Zustandekommen des Krebses ursächlich überhaupt nicht beteiligt sei, nicht anschließen. Gegen diese Ansicht spricht einmal die Tatsache, daß ganz regelmäßig das tote Rindengewebe eines Krebses von *Dasysscypha Willkommii*, und zwar ausschließlich von diesem besiedelt ist, und zum anderen, daß von nicht durch Frost hervorgerufenen Wundstellen aus sich keine alljährlich fortschreitende Krebsstelle entwickelt. Es wurden daher nochmals die Angaben der Vertreter der Pilzkrebstheorie einer eingehenden Prüfung unterzogen.

### B. Die Pilzkrebstheorie.

Nach der Pilzkrebstheorie entsteht ein Krebs dadurch, daß von einer mit *Dasysscypha Willkommii* infizierten Stelle aus der Pilz weiter um sich greift und dabei alljährlich in einem gewissen Umkreis das Kambium tötet. Nach jedem solchen Vorstoß des Pilzes, der nach diesen Angaben hauptsächlich im Herbst und Frühjahr vor sich geht (Hartig, 3, 4), versucht der Baum, die dadurch entstandenen Wunden durch Überwallungen wieder zu schließen und den Pilz durch eine Wundkorkschicht von dem gesunden Gewebe abzukapseln. Diese mehrfachen Überwallungswulste stellen dann den Krebs dar.

Die Art, wie der Pilz von der Infektionsstelle aus weiter vordringt, dachte man sich parasitisch (nach neuerer Auffassung [Münch, 11] „perthophytisch“) (Willkomm, 21, Hartig, 3, 4, Hiley, 5, Plaßmann, 14), d. h. man nahm an, der Pilz könne lebendes Gewebe befallen und abtöten.

Willkomm (21) kam zu dieser Ansicht dadurch, daß er Pilzmyzelien auf mikroskopischem Wege in der an den Krebs angrenzenden noch lebenden Rinde gefunden zu haben glaubte. Ein solcher Myzelnachweis mit dem Mikroskop ist nun aber, wie ich schon in meiner Arbeit über die Kiefernenschütte (7) dargelegt habe, sehr unsicher und trügerisch. Es war daher von vornherein gegenüber diesen Befunden Skepsis am Platze.

Meine Nachprüfung mittels der gleichen mikroskopischen Methode hatte ein negatives Ergebnis. Natürlich besagt auch dies sehr wenig, denn das Auffinden vereinzelter Myzelfäden in einem Gewebe ist mehr oder weniger Glückssache. Ich schlug daher noch einen anderen Weg ein und impfte kleine Rindenstücke sowohl unmittelbar an der Grenze einer frischen Bräunung aus dem noch grünen wie auch aus dem frisch gebräunten Gewebe (natürlich außerhalb der Korkschicht) auf Agarplatten

ab. Über die dabei angewandte Methode vergleiche Seite 125). Es zeigte sich, daß in keinem Falle aus dem grünen Gewebe Pilz herauswuchs, während aus den gebräunten Stücken in verschieden großem Hundertsatz und nicht selten bis zu 100 % Myzelien herauswuchsen.

Ferner war von Münch (8) die Ansicht geäußert worden, der Pilz könne nur dann auf das grüne Gewebe übergreifen, wenn dieses einen genügend hohen Luftgehalt besitze. Seine Versuche darüber wurden von Plaßmann (14) wiederholt und wenn auch nicht eindeutig bestätigt, so doch auch nicht widerlegt. Eine nochmalige Wiederholung dieser Versuche hielt Münch für nötig, weil er seinerzeit die Frage nicht umfassend genug untersuchen konnte und sein Ergebnis nur mit Vorbehalt mitgeteilt hatte. Er beauftragte daher mich, als seinen Assistenten, mit der Durchführung dieser Arbeit.

Die einzelnen Versuche nahmen folgenden Verlauf:

Am 18. 6. 1934 wurden sieben Lärchenstücke mit je einem gut ausgeprägten Krebs im Grafrather Versuchsgarten geschnitten. Nr. 1 wurde mit der unteren Schnittfläche in Wasser gestellt und mit einer Glasglocke gegen Verdunstung geschützt. Nr. 2 wurde frei in Wasser gestellt, die übrigen ließ ich verschieden stark abtrocknen. Die dadurch erhaltenen Gewichte der Lärchenstücke betrugen für

Krebsstück Nr. 1	133 %
„ „ 2	122 %
„ „ 3	99 %
„ „ 4	94 %
„ „ 5	87 %
„ „ 6	79 %
„ „ 7	69 %

des Waldfrischgewichtes. Während der Laufzeit des Versuches wurden mehrmals die Gewichte der gegen weitere Wassergehaltsveränderung geschützten Stücke festgestellt. Es wurde befriedigende Stetigkeit erreicht.

Die Untersuchung am 10. 7. 1934 ergab, daß nur in zwei Fällen, nämlich bei Krebs 6 und 7, ein Fortschritt der Bräunung über die vorher genau markierte Krebsgrenze am 18. 6. eingetreten war. Eine genauere Untersuchung ergab jedoch, daß daran der Krebspilz nicht beteiligt war. Krebsstück 7 war schon bald infolge der starken Wasserabgabe abgestorben und infolgedessen gebräunt, bei Krebs 6 konnte durch Abimpfung aus frisch gebräunten Rindenteilen einwandfrei festgestellt werden, daß der Pilz in diesem Gewebe fehlte. Überdies fanden sich auch sonst noch stärkere Bräunungen, besonders auch von den Schnittflächen aus, die mit Bestimmtheit völlig unabhängig vom Vorhandensein des Krebspilzes waren.

In gleicher Weise wurden dann noch fünf am 25. 6. 1935 geschnittene Krebsstücke behandelt. Ihr Feuchtigkeitsgehalt betrug 106 bis 70 % vom Waldfrischgewicht. Das Ergebnis war sehr unklar, weil die Krebsstücke 3

bis 6 bereits am 2. 7. fast völlig abgestorben waren. Die Ursache dieses Absterbens konnte nicht erkannt werden, eine Beteiligung des Krebspilzes hieran ist aber völlig ausgeschlossen. Verschiedentlich ließ sich sogar feststellen, daß gerade in der Umgebung des Krebses, und zwar unmittelbar an der bereits gebildeten Korkschicht, die Rinde noch grün war. Das mit Wasser bis auf 106 % des Frischgewichtes angereicherte Stück war allein noch völlig grün, auch unmittelbar an der Korkschicht.

Das zuletzt genannte Krebsstück, dessen Frischgewicht 91 g betrug, ließ ich vom 2. 7. an abtrocknen. Am 14. 7. wog es noch 64 g, das sind 70 % vom Frischgewicht. Während dieser Zeit drang der Pilz nirgends in das gesunde grüne Rindengewebe ein. Ganz deutlich begann überall anschließend an die rote Korkschicht völlig unversehrte Rinde.

Schließlich wurden noch drei Krebse einer vom Stadtforstamt Köslin am 10. 9. 1935 in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellten Krebssendung untersucht. Krebs 1 wurde ins Wasser gestellt, Krebs 2 um 10 %, Krebs 3 um 20 % abtrocknen gelassen. In keinem Falle konnte während einer vierwöchigen Beobachtungszeit ein mit dem Krebsherd in Verbindung stehendes Vordringen von Bräunungen über die diesjährig ausgebildete Korkschicht hinaus festgestellt werden.

Als Besonderheit sei noch folgendes mitgeteilt: Ein großer Teil der übersandten Stücke war über und über mit mehrjährigen, zum Teil fast stammumfassenden Krebsen bedeckt. Bei diesen Stücken fand sich, daß sowohl angrenzend an die Krebse, wie auch völlig unabhängig davon, Rindenteile offenbar frisch abgestorben waren. Die Frage nach der Ursache dieses Absterbens muß offen gelassen werden (normale Borkenbildung oder Anzeichen allgemeinen Absterbens infolge der starken Verkrebsung?). Daß der Krebspilz aber nicht unmittelbar daran beteiligt ist, ergibt sich daraus, daß solche Stellen ja auch unabhängig von der Krebstelle selbst auftreten. Überdies sind die isolierten toten Stellen regelmäßig unverpilzt. Dagegen konnte bei einigen krebsangrenzenden Stellen Verpilzung nachgewiesen werden. Doch sagt das nichts über die Entstehung dieser Flecken, denn der Pilz wächst in totes Rindengewebe, wie schon Plaßmann (14) feststellte, ohne weiteres hinein.

Dieser Fall beweist, wie sorgfältig die Krebse vor ihrer Verwendung als Versuchsstücke untersucht werden müssen, um sich vor Irrtümern bei der Beurteilung des Fortschreitens des Pilzes zu schützen. Denn man kann einer solchen Bräunung nicht ohne weiteres ansehen, ob sie erst während der Laufzeit des Versuches und im Zusammenhang mit dem Krebspilz aufgetreten ist oder bereits vorhanden war.

Diese Ergebnisse der Wiederholung des Münch'schen Versuches, die ein Vordringen des Pilzes auch unter den verschiedensten Feuchtigkeitsverhältnissen der Rinde nicht erkennen lassen, werden durch die folgen-

den, mit anderer Versuchsanordnung ausgeführten Untersuchungen bestätigt.

Aus gesunden Lärchenstücken mit verschiedenem Feuchtigkeitsgehalt wurden mittels eines Stanzeisens kreisrunde Rindenstücke ausgestanzt und statt ihrer um eine Kleinigkeit größere Stanzstücke aus einem Lärchenkrebs eingesetzt. Die Impfstücke wurden um eine Kleinigkeit größer genommen, weil dadurch eine besonders innige Berührung des Krebsgewebes mit dem gesunden Rindenrand erzielt werden konnte. Zur Kontrolle wurde der gleichen Anzahl statt Krebsrinde gesunde Rinde in derselben Weise eingesetzt.

So wurden acht am 5.4.1935 geschnittene Lärchenstücke behandelt, und zwar wurden die ersten zwei in waldfrischem Zustand sofort beimpft und mit der unteren Schnittfläche in Wasser gestellt. Die Stücke 3 und 4 wurden nach Abtrocknung um 15 und 10 % des Frischgewichtes ebenfalls beimpft, ihr Feuchtigkeitsgehalt aber weiter konstant gehalten. In gleicher Weise wie mit 3 und 4 wurde dann noch mit den Stücken 5, 6 und 7, 8 verfahren, nach Abtrocknung um 21 und 18 bzw. um 28 und 24 %. Die Beimpfung erfolgte bei jedem Stück an sechs Stellen, bei den Stücken 1, 3, 5 und 7 mit verpilzter Rinde, bei den übrigen Stücken mit gesunder Rinde.

Die Zusammenstellung in Tabelle 1 zeigt, daß von einer klaren Beziehung zwischen Pilzfortschritt und Feuchtigkeitsgehalt der lebenden Rinde offenbar nicht gesprochen werden kann. Die wenigen auftretenden Bräunungen sind entweder nur sehr schmal (bis 3 mm) oder treten erst nach 30 Tagen auf. In drei Fällen zeigt überdies auch die mit gesunder Rinde beimpfte Kontrolle die gleichen Bräunungen.

Zusammengefaßt haben diese Versuche ergeben, daß der Pilz unter keinen Umständen in lebendes Gewebe eindringen und dieses abtöten kann, auch nicht unter den verschiedensten Feuchtigkeitsverhältnissen.

Zur Klärung der Frage, ob der Pilz durch Ausscheidungen das Gewebe zu töten und zu besiedeln vermag (Hiley, 5, Plaßmann, 14), also Perthophyt sei, können diese Ergebnisse nicht beitragen. Es wird jedoch später dargelegt werden, daß ihm tatsächlich keine perthophytische Lebensweise zukommt.

Dagegen hat es nach dem Befund bei Stück 1 der Tabelle 1 den Anschein, als hätte der Pilz die Fähigkeit, bei Vorhandensein genügend hohen Wassergehaltes der lebenden Rinde in irgendeiner Weise auf diese einzuwirken, ohne sie dabei abzutöten, etwa so, daß er durch ein ausscheidendes Enzym eine gelbliche Verfärbung der grünen Rinde hervorruft. Da diese Erscheinung jedoch im Mittelpunkt der weiteren Ausführungen steht, sei an dieser Stelle nur kurz darauf hingewiesen.

Tabelle 1.

Stück Nr.	Abtrocknungs-Prozent	K = mit Krebsrinde beimpft G = mit gesunder Rinde beimpft	Untersuchungsbefund in Umgebung der Impfstellen nach Anzahl Tagen		
			5	10	15
1	(steht in Wasser)	K	3 mm gelblich trüb	2 mm trüb mit bräunlichem Rande	2 mm trüb grün
2	(steht in Wasser)	G	—	—	—
3	15	K	—	—	—
4	10	G	—	—	—
5	21	K	—	—	—
6	18	G	—	—	—
7	28	K	—	—	1 mm braun
8	24	G	—	—	—

Stück Nr.	Abtrocknungs-Prozent	K = mit Krebsrinde beimpft G = mit gesunder Rinde beimpft	Untersuchungsbefund in Umgebung der Impfstellen nach Anzahl Tagen		
			20	25	30
1	(steht in Wasser)	K	trüb gelblich	2 mm gelblich mit bräunlichem Rande	2 mm trüb gelblich
2	(steht in Wasser)	G	—	—	3 mm trüb gelblich
3	15	K	1 mm braun	1,5 mm braun	4 bis 6 mm braun
4	10	G	1,5 mm gelbl.-braun	1,5 mm braun	4 mm braun
5	21	K	—	3 mm braun	3 bis 5 mm braun
6	18	G	—	—	—
7	28	K	—	0,5 mm braun	4 mm braun
8	24	G	—	—	—

### C. Eigene Beobachtungen.

#### Annahme einer Wechselwirkung zwischen Pilz und Frost.

Auf Grund eingehender Beobachtungen an einer sehr großen Zahl von Krebsen, die unter den verschiedensten Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnissen gehalten wurden, gelangte ich zu einer völlig anderen Vorstellung über die Wirkungsweise des Pilzes.

Zunächst seien hier kurz die in Zimmerversuchen wahrgenommenen Vorgänge, die sich in der Umgebung der Krebsstelle abspielen, dargestellt:

Stellt man einen im Winter geschnittenen Krebs mit der unteren Schnittfläche ins Wasser, so kann man schon nach wenigen Tagen feststellen, daß sich unter der Epidermis um die bereits vor Versuchsbeginn außerhalb der vorjährigen Korkschiecht (K) toten Stellen (P) herum das

grüne Gewebe eigentlich glasig verfärbt. Nach einiger Zeit nimmt diese, nur wenige Millimeter weit reichende, offenbar durch Pilzenzyme hervorgerufene „Enzymzone“ (E-Zone) eine gelblichere Farbe an (ganz ähnlich der bei der Rindeninfektion beobachteten Erscheinung, s. S. 117/118) und grenzt sich nach außen hin durch braun gefärbte Zellschichten ziemlich scharf ab. Die Abgrenzung wird als Kampfzone bezeichnet (s. Abb. 3 und Abb. 8a, 9a). Das außerhalb dieser Zone liegende Gewebe ist beim Anschnitt frisch grün, verfärbt sich aber sehr rasch grünlich-violett (A-Zone), am stärksten in der Nähe der braunen Grenzschicht (Kf). Nach außen hin verläuft diese Färbung diffus. Läßt man den Krebs noch längere Zeit stehen, so können sich noch weitere Kampfzonen bilden, ohne daß dieses so geschädigte Gewebe abstirbt. Selbst das Chlorophyll war in den obersten Zellschichten nachweisbar. Nach dieser Sachlage mußte angenommen werden, daß in diesem Gewebe kein Pilzmyzel vorhanden ist. Ein Schnitt durch eine solche Stelle ergab keine Widerlegung dieser Vermutung. Während die alte, diesjährig getötete P-Zone völlig verpilzt, zum Teil bereits vom Pilz zerstört war, ließ sich in der unmittelbar angrenzenden E-Zone kein Myzel finden. Die Abb. 4 ist nach der Natur gezeichnet und zeigt anschaulich die Ausbildung der E-Zone angrenzend an das diesjährig getötete, bereits verpilzte Gewebe (P) und ihren Abschluß durch die Kampfzone Kf. Abb. 5 zeigt die gleiche Stelle an einem anderen Krebs als Mikroaufnahme.

Diese Zonenbildung in der Umgebung des Krebses tritt jedoch nur während der Vegetationsruhe auf. Sobald das Rindengewebe im Frühjahr zu erwachen beginnt, lassen sich selbst unter für das Pilzwachstum sehr günstigen Bedingungen keine Einwirkungen mehr nachweisen, mit Ausnahme eines schmalen Ringes anstoßend an das abgestorbene Gewebe, der sich nach Abschälung der Epidermis schmutzig dunkel färbt. Dieser Ring verläuft aber nicht diffus nach außen, sondern ist mehr oder weniger scharf begrenzt. Auch dieses Gewebe ist pilzfrei.

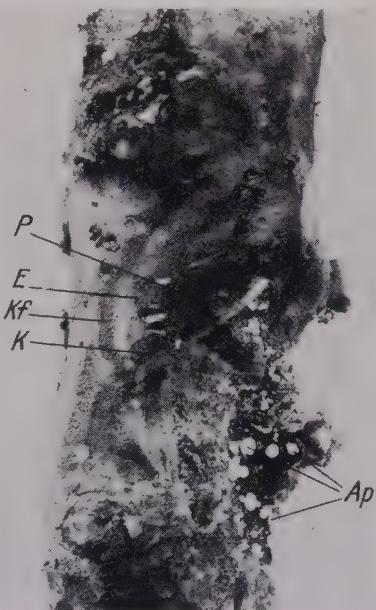


Abb. 3.  
Lärchenkrebs.  
Epidermis teilweise abgeschält.  
K = vorjährige Korkschicht, P = diesjährig getötete Rinde, E = künstlich erzeugte E-Zone mit Kampfzone Kf,  
Ap = Apothecien des Pilzes auf vorjähriger Krebsstelle.

Dieses Nichtauftreten von Zonen während der Vegetationszeit hat jedoch seine Ursache nicht im Vorhandensein einer schützenden Korkschicht. Diese wird erst viel später gebildet. 1935 konnte z. B. bei einem am 6. 5. geschnittenen Krebs noch nach 14 Tagen keine Spur einer Zonenbildung bemerkt werden, obwohl noch keinerlei Korkbildung begonnen hatte. Korkbildung konnte in diesem Jahre in den ersten Anfängen erst an verschiedenen, am 25. 6. geschnittenen Krebsen festgestellt werden.

Es ergibt sich also die merkwürdige Tatsache, daß der Pilz während der Vegetationsruhe bei genügender Wärme, offenbar durch diffundierende Ausscheidungen, das grüne Gewebe weitgehend zu verändern, aber nicht zu töten vermag, und daß er auch nicht imstande ist, in dieses geschädigte Gewebe nun einzudringen. Sobald die Rinde aus der Winterruhe

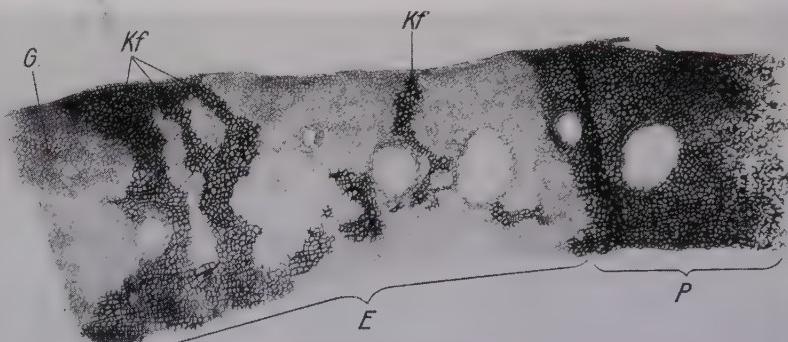


Abb. 4.

Radialer Längsschnitt durch Lärchenrinde in der Nähe eines Krebses.

P = verpilzte, tote Rinde, E = während der Beobachtung im Zimmer entstandene E-Zone mit braunen Abgrenzungen Kf., G = gesundes Gewebe.

Nach der Natur halbschematisch gezeichnet. 10× vergrößert.

erwacht, hört diese „Enzymwirkung“ auf, ohne daß daran die Schutzwirkung einer Wundkorkschicht beteiligt wäre. Vielmehr muß die Ursache hierfür in der Lebenstätigkeit der Rindenzenellen gesucht werden.

Mit diesem Befund ist der wichtige Nachweis erbracht, daß der Pilz nicht, wie Hiley und Plaßmann glaubten, durch ein ausscheidendes Enzym die lebenden Zellen zu töten vermag und dann dieses getötete Gewebe durchwächst (Perthophytie).

Darüber hinaus gab dieses Ergebnis aber ein neues Rätsel auf. Denn nun war die weitere Frage die, wodurch das so geschädigte Gewebe abgetötet wird. Daß es tatsächlich durch irgendetwas getötet wird, geht aus den Beobachtungen in der Natur zwangsläufig hervor, wonach sich im Frühling an fast jedem Krebs frisch getötete Stellen außerhalb der vorjährigen Korkschicht finden.

Ein am 8. 1. 1935 geschnittener Krebs gab die Möglichkeit einer Erklärung.

Dieser Krebs wies an einer Stelle innerhalb des frisch getöteten Rindengewebes deutlich drei verschieden braun gefärbte Zonen auf. Die Abtötung schien stückweise zu drei verschiedenen Zeitpunkten erfolgt zu sein. Die Durchsicht der Wetteraufzeichnungen ergab nun, daß seit Abschluß der Vegetation bis zu dem Zeitpunkt des Abschneidens der Krebse in der Grafrath nächstgelegenen Wetterstation St. Ottilien drei Frostperioden verbucht waren, nämlich vom 22. 10. bis 23. 10. 1934, vom 20. 11. bis 2. 12. 1934 und vom 4. 1. bis 8. 1. 1935. Außerdem war die Temperatur noch am 9. und 15. 12. 1934 unwesentlich unter 0 Grad gesunken.

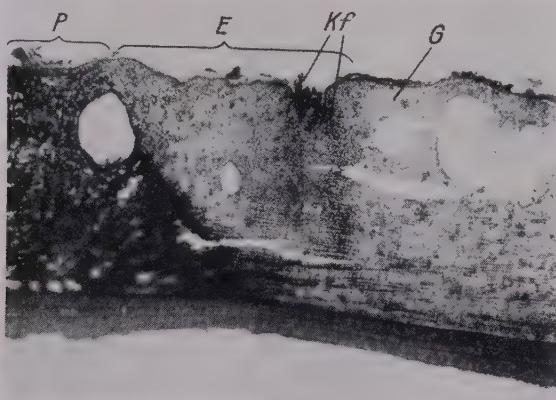


Abb. 5.

Radialer Längsschnitt durch Lärchenrinde in der Nähe eines Krebses.

P = verpilzte, tote Rinde, E = künstlich erzeugte E-Zone mit zwei Kampfzonen Kf,  
G = gesundes Gewebe. Mikroaufnahme. 7.5 X vergrößert.

Nach diesem Befund und den Beobachtungen im Zimmer schien mir die folgende Erklärung für das Vordringen des Pilzes zulässig zu sein:

Während der Vegetationszeit vermag der Pilz in keiner Weise auf das grüne Gewebe einzuwirken. Sobald im Herbst die Lebenstätigkeit der Rinde erlischt, ist der im vorjährigen Krebsgewebe (Kr) sitzende Pilz befähigt, bei genügend warmer Witterung durch Ausscheiden eines Enzyms das unmittelbar angrenzende grüne Rindengewebe zu verändern, aber nicht zu töten. Die Veränderung des Gewebes durch das Pilzenzym besteht in einer Verweichung gegen Frost. Beim Eintritt von Frostwetter erfriert dann die geschädigte Zone (E-Zone) und wird damit zur zunächst pilzfreien toten Zone T (s. Abb. 8a). In diese T-Zone vermag der Pilz bei Wiedereintritt milder Witterung sa-

prophylatisch einzudringen. Nach völliger Verpilzung haben wir dann die Zone P (Abb. 3 bis 5, 8a, b, 9a, b) vor uns, zum Unterschied von dem vorjährig verpilzten, durch eine Korkschicht (K) abgekapselten Krebsstein Kr. Bei genügend lang anhaltender warmer Witterung wird schließlich wieder eine neue E-Zone gebildet, die ebenso wie die vorige erfriert (s. Abb. 6). Diese Tätigkeit des Pilzes kann sich bei genügendem Wechsel zwischen warmer und kalter Witterung während des ganzen Winters mehrmals wiederholen, wird aber besonders stark wieder im Frühjahr bei höherer Temperatur, die dem Pilz ein rascheres Wachstum ermöglicht, vor Erwachen der Lebenstätigkeit der Rinde, anzutreffen sein. Die seit langem bekannte Hauptvergrößerung der Krebsstellen im Herbst und Frühjahr, die bereits Münch mit mildem Herbst- bzw. Frühlingswetter in Zusammenhang gebracht hat (8), ließe sich auf diese Weise zwanglos erklären.

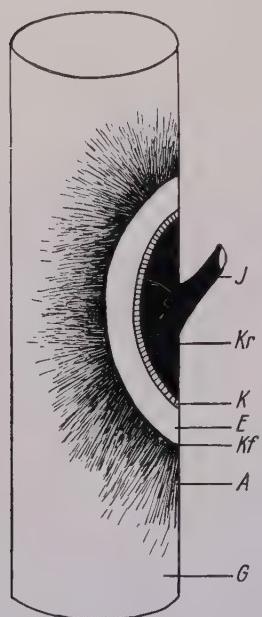


Abb. 6.

Lärchenstammstück schematisch die Aufeinanderfolge der einzelnen Zonen darstellend.

Epidermis abgeschält.  
J = Infektionsstelle des Vorjahres, Kr = im Infektionsjahr verpilztes Rindengewebe, K = vorjährige Korkschicht, E = frostempfindliche Enzymzone, die später durch Frost getötet wird.

A = A-Zone,  
G = gesundes Gewebe.

Dieser Erklärungsversuch hatte zunächst nur die Bedeutung einer Arbeitshypothese. Sie erwies sich bei den im folgenden Abschnitt vorgetragenen Versuchen als stichhaltig. Der Beweis besteht in folgendem:

1. Nachweis einer höheren Frostempfindlichkeit der E-Zone gegenüber dem gesunden Gewebe und dem Gewebe der A-Zone.
2. Nachweis der Verteilung der Pilzfäden in den verschiedenen Zonen, die nach der Hypothese zu fordern war.

#### D. Beweise für die Wechselwirkung zwischen Pilz und Frost.

##### 1. Die Frostempfindlichkeit der E-Zone.

###### a) Einwirkung künstlicher Kälte.

Ein am 20. 3. 1935 geschnittener Krebs wurde bis zum 29. 3. bei Zimmertemperatur bis zur Bildung einer 5 mm breiten E-Zone stehen gelassen. Der Bereich der E-Zone wurde durch Anschneiden an verschiedenen Stellen festgestellt und mit Farbstift auf der Korkhaut bezeichnet.

Darauf wurde der Krebs im Kühlschrank zwei Tage einer Kälte von  $-3^{\circ}$  ausgesetzt. Der erneute Anschnitt ergab, daß die nunmehr gefrorene E-Zone sich beim Auftauen rasch bräunte. Nach Verlauf von weiteren zwei Tagen, während derer der Krebs wieder im Zimmer stand, wurde die Epidermis allseitig abgeschält, und es fand sich, daß nun die frühere E-Zone dunkelbraun und völlig tot war, die angrenzende A-Zone und das gesunde Gewebe aber völlig unversehrt waren.

In der gleichen Weise wurden noch 15 weitere Krebse behandelt. Dabei wurde die Zahl der Tage, während derer sie vor und nach dem Erfrieren im Zimmer standen, wie auch die Zeit der Einwirkung der Kälte verschieden variiert. Das Ergebnis war, abgesehen von drei Fällen, in denen die Bräunung der E-Zone nicht sicher festgestellt werden konnte, immer das gleiche: Die E-Zone war durch die Kälte regelmäßig getötet, während das übrige grüne Gewebe keinen Schaden nahm. Die angewendeten Temperaturen schwankten von  $-3$  bis  $-11$  Grad. Es genügten also schon ganz geringe Frostgrade, um den Erfolg herbeizuführen. In einem Falle wurde die Abtötung der E-Zone bereits durch 24 stündige Einwirkung von  $-3$  Grad bewirkt.

### b) Messung des osmotischen Wertes.

Wie durch eingehende Untersuchungen mehrerer Forscher festgestellt ist, wird die Frosthärté in hohem Maße durch die Konzentration des Zellsaftes bestimmt. Die Frosthärté und der osmotische Wert der Pflanzenzelle verlaufen gleichsinnig (Pfeiffer, 13, Tumanow, 17, Walter, 19). Die Frostempfindlichkeit eines Pflanzengewebes ist um so höher, je niedriger sein osmotischer Wert ist. Wenn es daher gelingt, festzustellen, daß der osmotische Wert der E-Zone geringer als der der anstoßenden A-Zone und besonders des gesunden Gewebes ist, so ist damit die beobachtete höhere Frostempfindlichkeit der E-Zone auch mittelbar bewiesen.

Es wurden deshalb an drei Krebsen die osmotischen Werte dieser Gewebe festgestellt. Herrn Dr. Chu, der im gleichen Institut an osmotischen Untersuchungen arbeitete und mich bei dieser Arbeit wesentlich unterstützte, sei an dieser Stelle mein besonderer Dank ausgesprochen.

Bei der Untersuchung wurde die von Ursprung und Blum (18) angegebene Kapillarmethode angewendet und folgendermaßen gehandhabt: Von Krebsen, die genügend breite E-Zonen aufwiesen, wurde die Epidermis mit einem scharfen Messer abgeschält. Dann wurde das zu prüfende Gewebe herausgeschnitten, zerstückelt und durch Erhitzen im Wasserbad unter dichtem Verschluß während 20 Minuten abgetötet. Das so erhaltene Material wurde in van Tieghem-Zellen eingedrückt. Diese Zellen wurden mit Deckgläschen, an deren unterer Seite Kapillarröhrchen mit verschiedenen konzentrierten Zuckerlösungen mit Klebwachs angebracht waren, abgeschlossen. Unter dem Mikroskop wurde sodann die Länge der Flüssigkeitssäulchen in den Kapillaren sofort nach Mikrometerteilstrichen gemessen. Nach etwa 24 Stunden wurde wiederum gemessen und der Unterschied gegenüber der ersten Messung festgestellt. Der osmotische Wert jener Flüssigkeitssäulchen, die unverändert geblieben waren, ist dann gleich dem osmotischen Wert des untersuchten

Gewebes. Näheres über die Theorie dieser Methode und ihre Genauigkeit siehe bei Ursprung und Blum (18).

Die Tabelle 2 enthält das Ergebnis dieser Untersuchungen an drei Krebsen:

Tabelle 2.

Konzentration der volum-molaren Rohrzuckerlösung	Osmotischer Wert in Atmosphären	Zu-(+) und Ab(-)nahme der Länge der Flüssigkeitssäulchen in den Kapillaren nach 24 Stunden in Mikrometerteilstreichen													
		Untersuchung am 20. April 1935 (Krebs 63)				Untersuchung am 25. April 1935 (Krebs 65)				Untersuchung am 7. Mai 1935 (Krebs 40)					
		Zone		Zone		Zone		Zone		Zone		Zone			
		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>
0,025	0,66									- 7					
0,050	1,32									- 4 - 3					
0,075	1,98									+ 2 + 0					
0,100	2,64									+ 0 + 1					
0,125	3,30									+ 3 + 2 + 0					
0,150	3,96					+ 2				+ 2 + 4 + 3					
0,175	4,62					+ 2					+ 8 + 2				
0,200	5,29					+ 4	+ 7				+ 1				
0,225	6,00					+ 1	+ 5				+ 4				
0,250	6,70	+ 0	+ 2			+ 3	+ 6				+ 5				
0,275	7,41					+ 6	+ 5					- 2			
0,300	8,13	+ 2	+ 4	- ?	- 1	+ 5	+ 5	- 5				- 3	+ 1		
0,325	8,85						+ 5	- 2				+ 1	+ 3		
0,350	9,58	+ 2	+ 3	+ 0	- 2			+ 0				+ 2	+ 2		
0,375	10,32							+ 1	+ 0			+ 4	+ 6		+ 7
0,400	11,11	+ 3	+ 5	+ 2	+ 0			+ 1	+ 2			+ 4	+ 7		
0,425	11,90							+ 2	+ 2			+ 5	+ 8		
0,450	12,69	+ 8	+ 9	+ 2	+ 3					+ 3				+ 6	
0,475	13,50									+ 3				+ 7	
0,500	14,31	+ 8	+ 10	+ 6	+ 3					+ 5				+ 9	
0,525	15,13														
0,550	15,99	+ 7	+ 12	+ 3	+ 5										
0,575	16,88														
0,600	17,77					+ 10	+ 9								
Der osmotische Wert beträgt in Atmosphären . . .		6,7	< 6,7	9,6	11,1	< 4,0	< 5,3	9,6	10,3	2,6	2,0	3,3	< 8,9		
Gesundes Gewebe hat mindestens mehr Atmosphären . . .				2,9				5,6					4,8		

Die Tabelle zeigt die gefundenen Werte für E und G. In sehr schöner Übereinstimmung ergab sich für das kranke Gewebe immer ein um mehrere Atmosphären (wenigstens 2,9, 5,6, 4,8) niedrigerer Wert als für das gesunde. Die Brauchbarkeit der angewendeten Methode erweist sich darin, daß die Werte für das gleiche Gewebe bei Messung in verschiedenen Zellen (G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>; E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>) immer annähernd miteinander übereinstimmen. Die absoluten Werte der Gewebe von den verschiedenen Krebsen können natürlich nicht gleich hoch sein, weil Alter und Wassergehalt dieser Gewebe den osmotischen Wert beeinflussen.

Am 25. 4. und 7. 5. wurden auch die Werte für das Gewebe der Zone A mit untersucht. Sie schwankten sehr stark, lagen aber immer über E. Die starken Schwankungen erklären sich daraus, daß die Abgrenzung der Zonen A und E gegeneinander im Innern der Rinde sehr unregelmäßig und dadurch eine Trennung dieser beiden Gewebsarten sehr schwierig ist. Es war infolgedessen nicht zu vermeiden, daß Gewebeteile von E mit unter A gerieten. Aus diesem Grunde wurde auf eine Veröffentlichung dieser Zahlen verzichtet. Grundsätzlich ist aber das Ergebnis, daß die E-Zone auch gegen die A-Zone im osmotischen Wert zurücksteht, gesichert.

## 2. Die Verpilzung der verschiedenen Zonen.

Wenn unsere Auffassung über die Wechselwirkungen zwischen Pilz und Frost zu Recht besteht, so müssen sich gemäß dem auf Seite 121/122 Ausgeführten für die einzelnen Zonen hinsichtlich der Verpilzung die folgenden Verhältnisse finden:

Kr = alter Krebsteil, muß zu 100 % verpilzt sein,

E = Enzymzone einschließlich der Kampfzone Kf, muß zu 100 % pilzfrei sein,

A = Zone nach außen angrenzend an die E-Zone, muß ebenfalls pilzfrei sein,

G = gesundes Gewebe angrenzend an einen Krebs, muß gleichfalls pilzfrei sein,

T = erfrorene E-Zone, muß kurz nach Erfrierung unverpilzt sein. Bei länger dauernder warmer Witterung muß sie nach und nach verpilzen, bis sie schließlich zur

P = 100 % verpilzten T-Zone wird.

Die Untersuchung des Rindengewebes auf Pilz wurde in zweierlei Weise durchgeführt.

Einmal durch Abimpfung kleinerer Rindenstücke auf Agar. Durch kurzes Eintauchen in Sublimat 1:1000 wurden die zu prüfenden Stellen äußerlich sterilisiert. Dann wurde die Epidermis mit sterilen Messern entfernt, und aus den so freigelegten zu prüfenden Stellen entnahm ich zirka  $1 \text{ mm}^3$  große Gewebeteile zur Auslegung auf Agar. Bei Vorhandensein von Krebspilz in dem Gewebe läßt sich schon nach kurzer Zeit herauswachsendes Myzel erkennen. Dieses Verfahren des Pilznachweises ist weit sicherer als die bloße mikroskopische Prüfung.

Die zweite Methode lehnt sich eng an ein Verfahren Hartigs (3) an, der aufgespaltene Krebse in warme feuchte Kammern stellte. Nach einiger Zeit konnte er dann aus den verpilzten Stücken Luftmyzel herauswachsen sehen. Dieses Verfahren wurde so abgeändert, daß die Epidermis des zu prüfenden Stückes völlig abgeschält und das so behandelte Stück dann in gleicher Weise wie bei Hartig in eine Feuchtkammer mit der

unteren Schnittfläche in Wasser gestellt wurde. Als Feuchtkammer kam ein durch eine Glasplatte verschlossener Standzylinder zur Verwendung. Nach einigen Tagen wächst, genau wie bei Hartig, aus den verpilzten Teilen üppiges Luftmyzel des Krebspilzes heraus, am dichtesten in der äußeren Zone der befallenen Stelle.

#### Zunächst das Ergebnis der Abimpfungen:

Aus dem Krebsteil Kr wurde bei insgesamt 24 Krebsen abgeimpft. Nahezu 100 %, nämlich von 247 Stücken 241, ergaben Pilzmyzel.

Die künstlich erzeugte E-Zone einschließlich der Kampfzone Kf wurde bei neun Krebsen untersucht. Aus 135 Stücken wuchs in keinem Falle Myzel heraus. Das Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung auf Seite 119, das für sich allein wenig beweiskräftig wäre, wird damit gesichert.

Ebenso wurde bei acht Krebsen (82 Stück) die A-Zone und bei fünf Krebsen (42 Stück) das gesunde Gewebe G völlig pilzfrei befunden (siehe auch Seite 115).

Die Verpilzung der T- und P-Zone wurde auf zweierlei Weise geprüft:

Einmal wurden Krebse mit diesjährigen Bräunungen untersucht. Da solchen Bräunungen nicht ohne weiteres anzusehen ist, ob sie bereits seit längerer Zeit abgetötet oder soeben erst erfroren sind, wurde der folgende Weg eingeschlagen:

Das außerhalb der Wundkorkschicht des Krebses abgetötete braune Gewebe wurde an von der Korkschicht verschieden weit entfernt liegenden Stellen abgeimpft. Wenn, wie wir ja annehmen, die T-Zone tatsächlich erst nachträglich verpilzt, so muß erwartet werden, daß mindestens bei einem Teil der Krebse der der Korkschicht näher gelegene Teil stärker verpilzt ist als der weiter entfernt liegende.

Tabelle 3 zeigt das Ergebnis für 13 nach frostigem und zwei nach frostfreiem Wetter geschnittenen Krebse. Außer Krebs 73, der nach dem Schneiden noch zwei Tage im Freien stand, wurden diese verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur mit der unteren Schnittfläche im Wasser stehend gehalten.

Das Ergebnis entspricht völlig dem für unsere Theorie zufordernden. Die toten Rindenteile in der Nähe der Korkschicht ( $T_1$ ) sind völlig verpilzt ( $T_1$  also gleich P), während die an das lebende Gewebe angrenzenden Teile ( $T_4$ ) keinen oder nur wenig Pilz nachweisen lassen. Die dazwischenliegenden Teile ( $T_2$ ,  $T_3$ ) sind mehr oder weniger stark verpilzt.

Besondere Beachtung verdient dabei, daß bei den nach Frostwetter geschnittenen Krebsen, völlig unabhängig von der Länge der Zeit, während der sie im Zimmer standen, der Pilz nur in drei Fällen (Krebs 10, 13, 71), und auch da nur in sehr geringem Maße, bis an das lebende Gewebe vorgedrungen ist, während bei den nach frostfreier Witterung (10. 4. und 7. 5.) geschnittenen Krebsen (73 und 75) der Pilz schon

Tabelle 3.

Krebs-Nummer	Abgeschnitten am	Witterung vorher	Krebse standen nach Abschneiden	Verpilzung			
				Zahl bedeutet Stückzahl der Abimpfungen (Zahl) bedeutet davon verpilzte Stücke			
				Zone T <sub>1</sub> *)	Zone T <sub>2</sub>	Zone T <sub>3</sub>	Zone T <sub>4</sub> **)
10	8. Januar 1935	Frostig	2 Tage im Wasser	8 (8)	11 (8)	—	19 (1)
11	"	"	2 Tage "	23 (23)	9 (2)	19 (7)	10 (0)
13	"	"	5 Tage "	—	10 (6)	12 (6)	7 (1)
14	"	"	6 Tage "	—	—	12 (1)	14 (0)
15	"	"	7 Tage "	—	— 14 (14)	14 (1)	9 (0)
17	"	"	11 Tage "	—	— 18 (18)	—	12 (0)
19	"	"	0 Tage "	7 (7)	14 (9)	—	9 (0)
20a	"	"	1 Tag "	—	— 11 (11)	11 (3)	10 (0)
20b	"	"	6 Tage "	—	— 14 (13)	—	8 (0)
21	28. Januar 1935	"	0 Tage "	8 (8)	11 (0)	9 (0)	11 (0)
22	"	"	0 Tage "	8 (8)	10 (0)	10 (0)	14 (0)
26	"	"	0 Tage "	—	— 13 (11)	—	12 (0)
71	4. April 1935	"	0 Tage "	10 (10)	—	—	9 (2)
73	10. April 1935	kühl und warm	2 Tage im Freien	12 (11)	9 (7)	—	13 (7)
75	7. Mai 1935	warm	0 Tag im Wasser	22 (22)	17 (16)	16 (15)	20 (9)
75	"	warm	10 Tage im Wasser	—	—	—	11 (8)

\*) An Korkschicht. \*\*) An lebendem Gewebe.

weitgehend von dem gesamten toten Gewebe Besitz ergriffen hat. Auf Grund dieser und verschiedener anderer Beobachtungen glaube ich annehmen zu dürfen, daß für das Vordringen des Pilzes in das getötete Gewebe dessen Wassergehalt ausschlaggebend ist, und zwar in dem Sinne, daß nur bei genügender Abtrocknung der Pilz eindringen kann. Damit wird natürlich die Feststellung, daß der Pilz in lebendes Gewebe auch bei Abtrocknung der Rinde nicht einzudringen vermag, keineswegs beeinträchtigt. Die vorliegenden Fälle ließen sich somit folgendermaßen erklären:

Die durch einen vor längerer Zeit aufgetretenen Frost getöteten E-Zonen der Krebse 73 und 75 hatten bis zum Versuchsbeginn am 10.4. bzw. am 7.5.1935 genügend Gelegenheit, abzutrocknen, Krebs 73 überdies noch innerhalb der zwei Tage nach dem Schneiden, während in den anderen Fällen die Abtrocknung dadurch, daß die Krebse, noch ehe sie in der Natur Gelegenheit zu Wasserverlust hatten, in hohen Standzylinern mit dem Fuße im Wasser standen, weitgehend verhindert wurde. Endgültiges läßt sich jedoch auf Grund des vorliegenden Beobachtungsmaterials noch nicht sagen.

Bei einer Reihe von anderen Krebsen wurde außer der bereits vorhandenen diesjährigen Bräunung eine neue T-Zone erst künstlich durch Erfrierung einer ebenfalls künstlich erzeugten E-Zone hergestellt. Die so behandelten Krebse wurden längere oder kürzere Zeit im Zimmer im

Wasser stehen gelassen und dann abgeimpft. Das Ergebnis, zusammengestellt in Tabelle 4, entspricht völlig dem erwarteten.

Tabelle 4.

Krebs Nr.	Nach Frosteinwirkung im Zimmer in Wasser  Zahl der Tage	Verpilzung					
		Zahl bedeutet Stückzahl der Abimpfungen (Zahl) bedeutet davon verpilzte Stücke		Alte T-Zone = P-Zone		Frisch erfrorene E-Zone = T-Zone	
		1 i	1 a	2 i	2 a		
39	2	—	9 (9)	—	—	20 (0)	
46	2	11 (10)	9 (8)	—	—	15 (0)	
47	2	—	13 (13)	—	—	14 (0)	
59	2	14 (14)	12 (10)	—	—	12 (0)	
61	2	—	—	—	—	9 (0)	
63	2	10 (10)	11 (11)	10 (0)	—	9 (0)	
64	2	9 (9)	9 (9)	9 (4)	—	9 (5)	
51	5	—	18 (18)	18 (18)	—	18 (0)	
52	7	9 (9)	9 (9)	9 (9)	—	9 (8)	
53	9	14 (12)	16 (16)	12 (10)	—	10 (10)	
50	10	9 (9)	9 (9)	9 (9)	—	9 (9)	
54	11	—	9 (8)	9 (9)	—	9 (8)	

1 i = Innen an Korkschicht.

1 a = Außen an neuer T-Zone.

2 i = Innen an alter T-Zone.

2 a = Außen an lebender Rinde.

Die alte P-Zone ist immer völlig verpilzt, die neue T-Zone kurz nach dem Erfrieren, bis auf Krebs 64, dessen Ergebnis vielleicht auf einem Abimpfungsfehler beruht, ist stets unverpilzt. Bei längerem Stand im Zimmer verpilzt die T-Zone schließlich, besonders rasch in der Nähe der alten

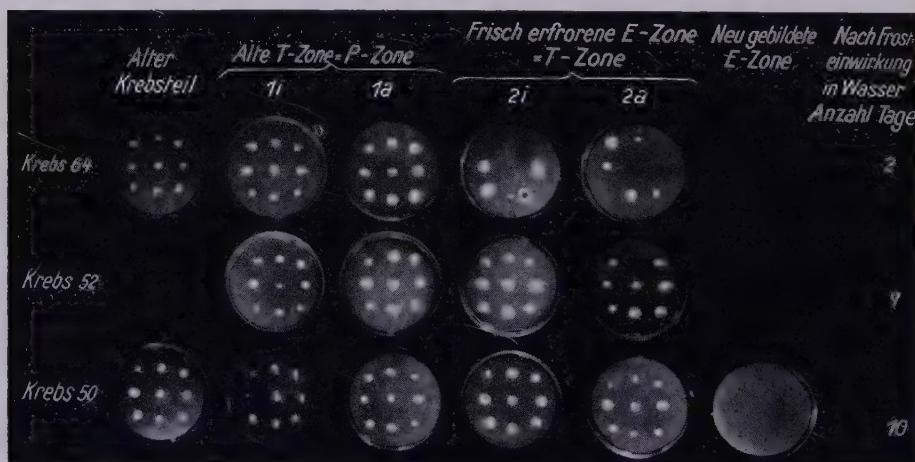


Abb. 7.

Abimpfung aus den verschiedenen Zonen. Näheres siehe Text.

P-Zone, immer mehr, im Gegensatz zum Ergebnis der Tabelle 3, bei dem diese Regelmäßigkeit nicht auftrat. Ob bei diesem Versuch die Zone T bessere Gelegenheit zum Abtrocknen gehabt hat als bei jenem, kann nicht festgestellt werden, weil bei der Versuchsanlage nicht auf diesen Umstand geachtet wurde.

Abb. 7 zeigt das Ergebnis der Abimpfung bei den Krebsen Nr. 64, 52 und 50 im Lichtbild. Die Zonenbezeichnungen entsprechen den in Tabelle 4 gebrauchten. Hinzugefügt sind die Abimpfungsergebnisse aus dem Krebsteil Kr von 64 und 50, sowie aus der neu gebildeten E-Zone von Krebs 50. Erstere zeigen, wie zu erwarten, 100 %ige Verpilzung, während die neu gebildete E-Zone völlig pilzfrei ist. In der Schale von Krebs 64/2i fällt die Verschiedenheit des einen Myzeliums von den übrigen auf. Es ist dies eine Verunreinigung, die natürlich nicht immer zu vermeiden ist.

Das Ergebnis des Pilznachweises mit der zweiten Methode (Abschälen der Epidermis und Stehenlassen im Feuchtraum, bis Luftmyzel

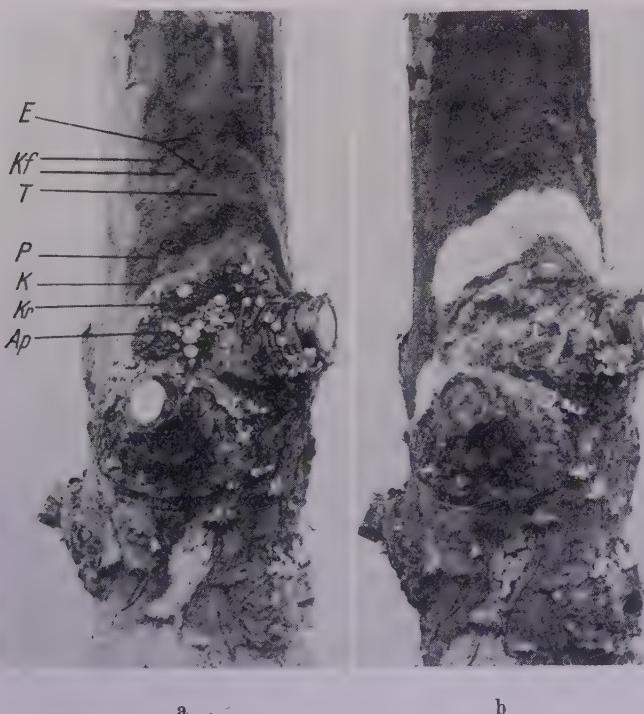


Abb. 8.

a Nach Entfernung der Epidermis sichtbare Zonenbildung in der Umgebung eines Krebses.  
Ap = Apothecien auf vorjährig verpilztem Rindengewebe Kr, K = vorjährige Korkschicht,  
P = P-Zone, T = T-Zone, E = E-Zone, Kf = Kampfzone.

b Derselbe Krebs einige Tage später.

Die Verpilzung der Zone P ist am herausgewachsenen Luftmyzel sichtbar, die übrigen Zonen sind unverpilzt.

herauswächst) stimmt völlig mit dem Ergebnis der Abimpfungen überein. Auf eine Einzelaufzählung kann daher verzichtet werden. Die Abb. 8 und 9 mögen zur näheren Erläuterung des oben Ausgeführten genügen.

### 3. Ergebnis.

Das Ergebnis der Versuche sowohl zum Nachweis der Frostempfindlichkeit der E-Zone wie zur Feststellung der Verpilzung der einzelnen Zonen entspricht den Forderungen unserer Theorie:



Abb. 9.

a Nach Entfernung der Epidermis sichtbare Zonenbildung in der Umgebung eines Krebses.

Kr = vorjährig verpilztes Rindengewebe,

K = vorjährige Korkschicht, P = P-Zone, E = E-Zone, Kf = Kampfzone.

b Derselbe Krebs einige Tage später.

Die Verpilzung der Zone P ist am herausgewachsenen Luftmyzel sichtbar,  
die übrigen Zonen sind unverpilzt.

1. Der Nachweis der erhöhten Frostempfindlichkeit der E-Zone gelang durch den erfolgreichen Versuch, die E-Zone mittels künstlicher Kälte abzutöten, während die Umgebung lebend blieb, zum anderen durch den Nachweis eines wesentlich geringeren osmotischen Wertes des Gewebes

der E-Zone gegenüber dem der A-Zone und besonders gegenüber dem gesunden Gewebe.

2. Die Zonen E einschließlich Kf, A und das gesunde Gewebe erwiesen sich als unverpilzt, während der alte, durch eine Korkschicht abgekapselte Krebsteil Kr zu 100% verpilzt war. In dem zwischen A und Kr liegenden erfrorenen Teil T ist eine von innen nach außen gegen A zu vorrückende Verpilzung nachgewiesen.

Die Bedingungen, von denen die Geschwindigkeit des Pilzwachstums in dem erfrorenen Gewebeteil abhängt, sind noch unbekannt. Doch darf aus verschiedenen Beobachtungen geschlossen werden, daß dabei der Wassergehalt dieses frisch getöteten Gewebes eine Rolle spielt, indem hoher Wassergehalt das Pilzwachstum beeinträchtigt bzw. verhindert. Die Angabe von Münch über die Abhängigkeit des Pilzwachstums vom Wassergehalt wäre also zutreffend, aber auf das tote Gewebe zu beschränken.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß die E-Zonen bei Krebsen im Freien weniger auffällig und weniger scharf abgegrenzt sind als nach mehrtägigem Stehen im Zimmer. Dies läßt darauf schließen, daß die tiefere Freilandtemperatur dem Wachstum des Pilzes weniger günstig ist. Das Vordringen der Bräunungen wird daher viel langsamer und stetiger vonstatten gehen.

#### E. Veränderungen im Rindengewebe durch den Pilz.

##### 1. Zweck und Gang der Untersuchung.

Münch hatte bei früheren, nicht veröffentlichten Untersuchungen am Krebs und anderen Rindenkrankheiten des Apfelbaumes folgende auffallenden Erscheinungen beobachtet: Legt man das Rindengewebe in der Umgebung einer kranken Stelle durch Anschneiden bloß, so verfärbten sich die an die tote Rinde grenzenden Rindenteile an der Luft in wenigen Minuten oberflächlich rotbraun. Legt man solche Rindenstücke in frischem, noch lebendem Zustand in Wasser, so geht eine braune Masse in Lösung, während lebende Rindenstücke aus größerer Entfernung von der Krebsstelle keine solche Verfärbung des Wassers bewirken.

Die Mitteilung dieser Beobachtung veranlaßte mich, entsprechende Versuche auch mit krebsbenachbarter Lärchenrinde zu machen. Hier traten ganz ähnliche Erscheinungen auf, die darauf schließen ließen, daß eine Krebsinfektion auch die angrenzende lebende Rinde über das verpilzte Stück hinaus stark verändert. Besonders auffallend war das Auftreten auslaugbarer brauner Stoffe in der E-Zone.

Meine Untersuchungen bezogen sich auf die Feststellung der Farbe von Auslaugungen, auf die Ermittelung des Gesamtdarrgewichtes, des Darrgewichtes des Wasserlöslichen, des Wassergehaltes und des Frisch-

gewichtetes der zu prüfenden Rinde. Ferner wurde in einigen Fällen der wasserlösliche Teil auf Gerbstoffgehalt geprüft. Untersucht wurde:

1. das tote Gewebe (P- und T-Zone),
2. die E-Zone,
3. die A-Zone,
4. das gesunde Gewebe G.

Besonders zu bemerken ist, daß alles tote Gewebe außerhalb der Korkschicht als T-Zone bezeichnet wurde, weil eine Unterscheidung zwischen P- (verpilzte) und T- (unverpilzte) Zone nur in den seltensten Fällen einwandfrei möglich war. Diese T-Zonen sind dann von innen nach außen mit  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  bezeichnet.  $T_1$  wird somit in den meisten Fällen verpilzt,  $T_2$  und  $T_3$  können auch unverpilzt sein.

Die Krebse wurden sämtlich in der Zeit der Vegetationsruhe vom Baum geschnitten und entweder sofort (ohne E-Zone) oder nach Bildung einer E-Zone im Zimmer bzw. nach deren künstlicher Erfrierung verarbeitet.

Aus dem zu untersuchenden Gewebe wurden nach Abschälen der Epidermis mit einem Stanzeisen kreisrunde Rindenscheibchen ausgestochen. Die aus der gleichen Gewebezone stammenden Stücke wurden zusammen gewogen. Darauf wurden diese Stücke in destilliertem Wasser ca. 20 Stunden ausgelaugt und die Farbe der Auslaugung festgestellt. Die Extrakte wurden bis zur Gewichtskonstanz bei  $60^\circ$  eingedampft, die ausgelaugten Stücke bei  $100^\circ$  gedarrt und auf 0,5 mg genau gewogen. Da die Anzahl der Stanzstücke (10—40 Stück) und ihre Größe (3 bzw. 5 oder 7 mm Durchmesser) für jede Zone nur innerhalb eines Krebses die gleiche war, wurden zur besseren Übersicht die erhaltenen Werte auf 1 qcm der ausgestochenen Rindenfläche umgerechnet. Ein Vergleich der bei verschiedenen Krebsen so erhaltenen Werte ist jedoch trotz dieser Umrechnung nicht möglich, weil die Rindendicke bei den verschiedenen Krebsen je nach Alter der Lärchenstämmchen sehr verschieden ist, und außerdem die zur Auslaugung verwendete Wassermenge nur innerhalb jedes Krebses und dessen Zonen die gleiche war. Die erhaltenen Werte sind in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Die Prüfung der Auslaugungen auf Gerbstoffgehalt erfolgte durch Ausfällen mit im Überschuß zugegebenem  $\text{FeCl}_3$  und Wägen des abfiltrierten und bei  $100^\circ$  gedarrten Niederschlags (Tab. 6).

## 2. Die Ergebnisse

### a) Farbe der Auslaugungen.

Das auffallendste, ohne weitere Hilfsmittel zu erkennende Ergebnis war die verschiedene Färbung der Auslaugungen. Während die Wasser- auszüge der T-Zonen und des gesunden Gewebes (G) meist fast klar oder doch nur schwach gelblich waren, zeigten die der E-Zonen regelmäßig eine

ziemlich lebhaft gelbliche bis bräunliche Färbung. Die Auslaugung der A-Zonen war meist etwas schwächer gefärbt als die der E-Zonen, doch stets stärker als die des gesunden Gewebes. Ferner hatte es den Anschein, als wäre die Auslaugung der T-Zone um so mehr gefärbt, je weiter sie von der vorjährigen Korkschicht entfernt war, d. h. also, je mehr die Möglichkeit bestand, daß der Pilz noch nicht Besitz von ihr ergriffen hatte. Dies war besonders auffällig bei Krebs 67 der Fall, bei dem die  $T_2$ -Zone durch künstliche Frosteinwirkung erzeugt worden ist und bestimmt noch keine oder nur geringe Verpilzung eingetreten war. Wie stark im einzelnen die Unterschiede in den Färbungen waren, zeigt die Abb. 10 oben.

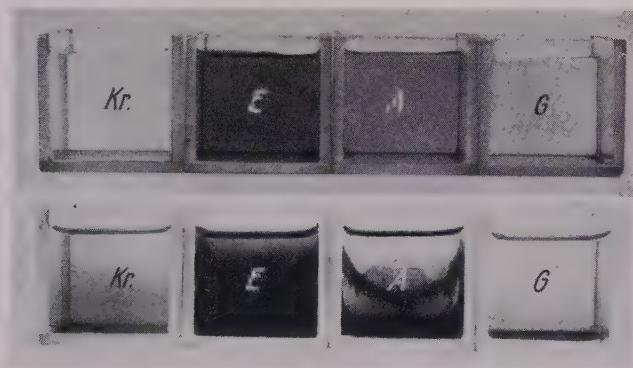


Abb. 10.

Oben: Farbunterschiede der Auslaugungen der Zonen Kr, E, A und G.  
Unten: Gerbstoff-Ausfällung durch  $\text{FeCl}_3$  aus denselben Auslaugungen. Näheres siehe Text.

Dieses Austreten löslicher Stoffe aus lebendem Parenchymgewebe ist höchst bemerkenswert, denn im allgemeinen lassen Parenchymmassen, die man aus dem gesunden Gewebe herausschneidet, nur in geringster Menge Stoffe in Lösung gehen, weil ja die Plasmahäute für die eingeschlossenen Stoffe praktisch undurchlässig sind. Es sei hier nur auf den bekannten Vorlesungsversuch mit roter Rübe hingewiesen, die, in Stücke geschnitten und in Wasser gebracht, dieses kaum merklich verfärbten.

b) Gesamtdarrgewicht, Darrgewicht des Wasserlöslichen, Wassergehalt und Frischgewicht (Tab. 5).

#### Gesamtdarrgewicht.

Das niedrigste Gesamtdarrgewicht besitzt das gesunde Gewebe (G). Höher sind die Werte — mit einer einzigen Ausnahme bei Krebs 30 — für die Zone A, d. h. also jenes Gewebe, das entweder unmittelbar an die E-Zone oder, wenn diese fehlte, an die T-Zone sich anschließt. Etwa die gleichen Werte ergeben sich für die E-Zone.  $T_1$  steht stets an der Spitze,

$T_2$  ist etwas leichter als  $T_1$ , aber außer bei Krebs 36 und 31 ist sein Darrgewicht auch höher als das von G, A und E.

#### Darrgewicht des Wasserlöslichen.

Entsprechend den beobachteten Färbungen erreicht die E-Zone — mit Ausnahme von Krebs 30 — immer die höchsten Werte. Die Werte für G sind immer niedriger als für E und meist die niedrigsten überhaupt. A steht bis auf Krebs 30 immer unter E, bis auf Krebs 34 immer über G. Die T-Zone weist teils sehr hohe (bis über den Wert von E bei Krebs 30), teils sehr niedrige (bis unter den Wert von G bei Krebs 34 und 38) Werte auf. Der Anteil an wasserlöslichen Stoffen ist bei  $T_2$ , mit Ausnahme von Krebs 36 und 60 höher, zum mindesten aber gleich hoch wie bei  $T_1$ , dessen Anteil sehr gering ist.

#### Wassergehalt.

Höchster Wassergehalt zeichnet in der Regel die E-Zone aus (Ausnahme Krebs 25, bei dem vermutlich ein Wägefehler vorliegt, und Krebs 29). Die A-Zone ist ebenfalls sehr wasserreich, bei Krebs 29 sogar wasserreicher als E. Weniger feucht als E und A ist G, mit Ausnahme von Krebs 23 und 25. Sehr wechselnd verhalten sich die T-Zonen, bei denen sich neben sehr hohen, A übersteigenden Werten ( $T_2$  bei Krebs 67 und 69) solche weit unter denen von G vorfinden.  $T_1$  ist mit Ausnahme von Krebs 36 immer bedeutend trockener als  $T_2$ .

#### Frischgewicht.

Das Frischgewicht verhält sich entsprechend den Werten des Darrgewichts und Wassergehalts, deren Summe es darstellt. Es ist demnach für E und A außerordentlich hoch, die Werte für A sind mit Ausnahme von Krebs 29 und 30 immer etwas niedriger. Sehr viel geringeres Frischgewicht kommt dem gesunden Gewebe zu, mit Ausnahme von Krebs 25, bei dem, wie bereits erwähnt, wahrscheinlich ein Wägefehler vorliegt.

Außerordentlich wechselnd, schwankend zwischen höchsten und niedrigsten Werten, verhält sich das Frischgewicht der T-Zonen. Doch wiegt  $T_2$ , mit Ausnahme von Krebs 36, 37 und 38, immer mehr als  $T_1$ , dessen Gewicht meist sehr niedrig ist. Besonders deutlich tritt das hohe Gewicht von  $T_2$  bei den Krebsen 67 und 69 hervor, deren  $T_2$ -Zonen frisch erfrorrene E-Zonen darstellen.

#### c) Gerbstoffgehalt der Auslaugungen.

Aus der roten Farbe der Auslaugungen war zu schließen, daß es sich bei den gelösten Stoffen in der Hauptsache um Gerbstoff handelt. Zu seiner Bestimmung wurden die Lösungen mit  $\text{FeCl}_3$  im Überschuß versetzt, wodurch die gerbstoffartigen Substanzen niedergeschlagen wurden.

Dieser Niederschlag, der eine bräunlich-grünliche Färbung hatte, wurde abfiltriert, bei 100° gedarrt und auf 0,5 mg genau gewogen. Dieses Verfahren ist zwar vom chemischen Standpunkt aus als sehr grob zu bezeichnen, doch dürfte es für unsere Zwecke, bei denen es ja nur auf die Feststellung von Unterschieden zwischen den einzelnen Zonen ankommt, vollkommen genügen.

Die erhaltenen Gerbstoffmengen sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Ohne weiteres ist der starke Gerbstoffgehalt der E-Zone im Gegensatz zu G, T<sub>1</sub> und Kr (alter Krebsteil) ersichtlich. Ebenfalls recht große Mengen lassen sich in der A-Zone und in der T<sub>2</sub>-Zone nachweisen, besonders wenn sie, wie bei Krebs 67 und 69, durch künstlichen Frost soeben erst getötete E-Zonen darstellen.

Da nach diesen Feststellungen die Stärke der Ausfällungen vollkommen der Stärke der Färbungen entspricht (s. Abb. 10) und da anderer-

Tabelle 5.

Krebs- Nummer	Zone	1 Quadratzentimeter Rinde hat in Milligramm			Wassergehalt	
		Frisch- gewicht	Darrgewicht			
			Insgesamt	des Wasserlöslichen		
Vor Bildung einer E-Zone untersucht.						
23	A G	201 200	74 64	2,6 2,4	127 136	
36	T <sub>1</sub>	114	74	2,7	40	
	T <sub>1</sub>	102	68	6,5	34	
	T <sub>2</sub>	81	50	1,6	31	
	A	165	66	7,1	99	
	A	143	57	6,0	86	
	A	141	57	5,3	84	
	G	92	35	3,3	57	
	G	92	35	3,3	57	
	G	92	35	2,8	57	
37	T <sub>1</sub>	170	113	4,6	57	
	T <sub>2</sub>	155	93	4,6	62	
	A	210	78	6,4	133	
	G	160	57	3,5	103	
	G	166	59	4,6	107	
Nach Abtötung der E-Zone durch künstlichen Frost untersucht. T <sub>2</sub> = frühere E-Zone.						
67	T <sub>1</sub>	354	155	7,4	199	
	T <sub>2</sub>	424	114	9,6	310	
	A	375	100	8,1	275	
	G	298	77	4,6	216	
69	T <sub>1</sub>	212	115	5,0	97	
	T <sub>2</sub>	392	105	5,7	287	
	A	367	94	9,9	273	
	G	287	74	5,0	213	

Tabelle 5 (Fortsetzung).

Krebs-Nummer	Zone	1 Quadratzentimeter Rinde hat in Milligramm			Wassergehalt
		Frisch-gewicht	Insgesamt	Darrgewicht des Wasserlöslichen	
Nach Bildung einer E-Zone untersucht.					
24	E G	210 180	74 54	3,7 1,9	136 126
25	E G	183 200	55 53	8,2 3,2	128 147
29	E A G	209 229 153	62 72 46	4,6 2,8 1,9	147 157 107
30	T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> E A G	146 171 169 171 162	59 49 38 38 38	3,5 3,7 3,3 3,6 1,9	87 122 131 133 124
31	T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> E A G	155 209 296 279 211	79 72 72 75 56	2,8 3,0 7,8 5,4 2,4	76 137 224 204 155
34	T E A G	218 262 241 228	104 84 80 75	3,5 5,2 3,7 4,1	114 178 161 153
38	T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> E A G G	191 181 273 263 178 176	112 93 79 87 59 57	3,5 3,5 7,8 7,1 4,1 3,9	79 88 194 176 119 119
60	T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> E A G	214 279 411 372 317	132 125 114 118 98	5,7 5,4 9,8 7,9 5,4	82 154 297 254 219

seits nach der Ausfällung die Lösung nur noch schwach gelblich durch das im Überschuß zugegebene  $\text{FeCl}_3$  gefärbt ist, muß die braune Farbe des Extraktes ausschließlich dem Gerbstoff zugeschrieben werden.

### 3. Die Bedeutung der Ergebnisse.

Überschauen wir diese soeben dargelegten Ergebnisse, so können wir uns folgendes Bild von ihrem Zustandekommen machen:

Tabelle 6.

Krebs-Nr.	Stückzahl	Gerbstoff in Milligramm in den Zonen:						Bemerkungen
		Kr	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	E	A	G	
42	40	1,5	—	—	5,0	2,0	?	
60	42	—	1,0	2,0	9,5	8,0	2,5	
67	20	—	0,5	3,5	—	2,0	0,5	T <sub>2</sub> = künstlich erfrorene E-Zone
69	20	—	0,5	1,5	—	?	0,5	T <sub>2</sub> = künstlich erfrorene E-Zone

Wie wir im vorigen Abschnitt sahen, bewirken die Ausscheidungen des Pilzes eine starke Erniedrigung des osmotischen Wertes des angrenzenden, lebenden Gewebes auf eine gewisse Entfernung und dadurch eine Verweichlichung gegen Frost. Die Veränderung des osmotischen Wertes wird durch Verwandlung osmotisch wirksamer Stoffe in gerbstoffartige, osmotisch weniger wirksame Stoffe erreicht. Außerdem findet als Reaktion ein Zustrom von Wasser und Bildungsstoffen statt, die in der Reaktionszone als Gerbstoff abgelagert werden. Die Folge ist eine Erhöhung des Trockengewichtes, des Wassergehaltes und somit auch des Gesamtgewichtes (Frischgewicht) der Flächeneinheit der Rinde. Weiter ergibt sich eine Verfärbung des lebenden Gewebes und Dunkelfärbung des Wasserauszuges von diesem gelben Gewebe (E-Zone). Nach Erfrierung des so veränderten und dadurch frostempfindlich gewordenen Gewebes bleiben diese Eigenschaften zunächst erhalten. Wir haben die unverpilzte Zone T<sub>2</sub> vor uns. Erst in dieses tote Gewebe vermag der Pilz einzudringen. Er assimiliert dann die für ihn verwertbaren, unter anderem auch die von uns festgestellten, in Wasser löslichen Stoffe. Die Menge dieser auslaugbaren Stoffe nimmt infolgedessen ab, die Farbe der Auslaugungen wird blasser. Die Gesamtrockensubstanz wird dabei aber nicht vermindert, sondern im Gegenteil, vermutlich durch Stoffzuleitung durch die Pilzhypfen, ganz außerordentlich vermehrt. Der Wassergehalt dagegen geht durch Austrocknen zurück. T<sub>2</sub> wird zu T<sub>1</sub>.

Die starke Substanzenreicherung vom gesunden zum kranken Gewebe infolge des Zustromes von Stoffen in dieser Richtung, besonders eine Anreicherung mit Gerbstoff, ist schon in der zwischen der gesunden Rinde und der Enzymzone gelegenen A-Zone zu beobachten, nur mit dem Unterschied, daß hier die osmotische Konzentration und damit die Frosthärté noch nicht absinken. Die Gerbstoffbildung, die bei der geringen osmotischen Wirksamkeit des Gerbstoffes den osmotischen Wert herabsetzen müßte, scheint also durch Zustrom von

gelösten, osmotisch wirksameren Stoffen (Zucker? usw.) ausgeglichen zu werden.

In dieser Richtung wurden die Untersuchungen nicht weiter fortgesetzt, doch versprechen vergleichende chemische Analysen der Zonen weitere wichtige Aufschlüsse.

Auch konnte die Frage nicht mehr untersucht werden, ob die festgestellte Substanzanreicherung der Rinde in der Umgebung des Krebses mit einer Volumzunahme, also einer Verdickung der Rinde, verbunden ist. Bei der Probenahme wurde auf diesen Umstand nicht geachtet.

Im Zusammenhang mit der Feststellung des Zustromes von Bildungsstoffen und Wasser nach den vom Pilz beeinflußten Rindenteilen sei an die von Münch (10) entdeckte wachstumssteigernde Wirkung erinnert, die holzzersetzende Pilze (*Stereum purpureum*, *Agaricus velutipes*, *Trametes radiciperda*) haben können. Offenbar handelt es sich beim Lärchenkrebs um eine ganz ähnliche Erscheinung.

#### F. Gegenmaßnahmen der Pflanze.

##### 1. Die Korkschicht.

Die den Krebs umgebende Korkschicht wird allgemein als Schutzwand gegen das weitere Vordringen des Krebspilzes in die gesunde Rinde aufgefaßt, wobei man sich die Wirkung so vorstellt, daß die Pilze diese Wundkorkschicht ebensowenig durchdringen können, wie jede andere Korkschicht. Das weitere Vordringen des Pilzes stellt man sich dann seit Hartig (3, 4) so vor, daß der Pilz auf dem Umweg über das Kambium dieses Hindernis umgeht.

Ganz abgesehen davon, daß ein Schutz gegen den Pilz im Sommer gar nicht nötig ist, da ja, wie gezeigt werden konnte, Pilzfortschritt nur durch Mitwirkung von Frösten ermöglicht wird, scheint mir auch nach Beobachtungen an zahlreichen Krebsen die Undurchdringlichkeit der Korkschicht zweifelhaft zu sein. Es kommt nämlich sehr häufig, besonders bei alten Krebsen, vor, daß sich das von der Korkschicht umgebene Krebsgewebe längs der Korkschicht seitlich von dem umgebenden lebenden Gewebe ablöst, indem sich die Korkschicht an diesen Stellen spaltet. Dadurch entsteht eine Lücke zwischen grünem und verpilztem Gewebe, die nicht unmittelbar überbrückt werden kann. Es zeigt sich nun, daß der Pilz nur an jenen Stellen Fortschritte macht, an denen der Zusammenhang innerhalb des Rindengewebes gewahrt geblieben ist, während er in das grüne Gewebe jenseits des Spaltes nicht vordringt (s. Abb. 11). Würde die Korkschicht in gleicher Weise undurchdringlich für den Pilz sein, wie der Spalt unüberbrückbar für ihn ist, so müßte entweder auch an diesen Stellen das Gewebe außerhalb der Korkschicht pilzfrei bleiben, oder aber, wenn man sich das Vordringen an dieser Stelle durch Umgehung der Korkschicht über das Kambium erklärt, müßte die Verpilzung jenseits des

Spaltes ebenso stark sein wie jenseits der ungespaltenen Korkschicht. Es bleibt also nur die eine Möglichkeit, daß der Pilz die Korkschicht durchwachsen hat.

Dieses Ergebnis, durch das die bisherige Auffassung von der Bedeutung der Korkschicht als undurchdringliche Schutzwand zumindest



Abb. 11.

a Stämmchen mit zwei Krebsen, die seitlich Spalten aufweisen.

Die Epidermis ist abgeschält, und die Krebse wurden zum Pilznachweis in einen Feucht Raum gestellt. Man sieht deutlich das Fehlen des Luftmyzels angrenzend an die Spalten

Etwa  $\frac{1}{2}$  der natürlichen Größe.

b Der untere Krebs von a in natürlicher Größe. Der Spalt ist deutlich sichtbar.

stark erschüttert wird, gibt somit eine neue Erklärung für die Bedeutung dieses Wundgewebes. Die Korkschicht scheint besonders auf die seitliche Ausbreitung des Pilzes dadurch hemmend zu wirken, daß sie durch Ablösung des infizierten Gewebes von dem gesunden ein direktes

Hineinwachsen in das benachbarte grüne Gewebe unmöglich macht. Daß diese Hemmung der seitlichen Ausbreitung beträchtlich sein kann, ist in der Abb. 11a besonders an dem oberen Krebs zu sehen, während an dem unteren Krebs (Abb. 11b) dies weniger ausschlaggebend zu sein scheint. Jedenfalls kann auf diese Weise die zu einer förmlichen Ringelung des befallenen Sprosses führende und deshalb besonders gefährliche seitliche Ausbreitung des Pilzes unter Umständen wesentlich verzögert werden.

Vielelleicht ist diese Schutzeinrichtung überhaupt die hauptsächlichste Ursache für das von fast allen Bearbeitern (Plaßmann, 14) hervorgehobene raschere Fortschreiten der Krebsstelle in der Längsrichtung als in der Richtung des Baumumfanges. Jedenfalls scheint mir diese Erklärung richtiger zu sein als die Annahme, daß der Pilz in der Längsrichtung wegen des Vorhandenseins des Siebröhrengewebes geringeren Widerstand fände als radial und deshalb rascher vordringen könne als nach der Seite. Diese Theorie ist schon deshalb unwahrscheinlich, weil in der Außenrinde, in der die Zellen annähernd isodiametrisch sind, der gleiche Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit des Krebses festzustellen ist.

Das Zustandekommen des schützenden Spaltes zwischen gesundem und verpilztem Gewebe dürfte folgendermaßen vor sich gehen:

Die Korkschicht entsteht während des Sommers an der Grenze zwischen totem und lebendem Gewebe. Sie ist eine Stelle geringeren Widerstandes im Rindengewebe und isoliert das gesamte verpilzte Rindengewebe von dem angrenzenden gesunden. Während der warmen Sommerszeit schrumpft das eingeschlossene tote und verpilzte Gewebe außerordentlich stark und löst sich dabei, wie schon Hartig (3, 4) und Willkomm (21) beobachteten, mehr oder weniger von dem frischen, lebenden Gewebe. Diese Loslösung findet an dem Ort des schwächsten Widerstandes, also in der Korkschicht, statt. Da nun die stärkste Schrumpfung in Richtung des Umfanges auftritt, so beginnt die Loslösung zunächst an der Seite, um von dort nach oben und unten hin fortzuschreiten. Am oberen und unteren Krebsrande wird wegen der geringen Schrumpfung in dieser Richtung meist die Verbindung mit der Korkschicht aufrecht erhalten bleiben.

## 2. Die Kampfzone.

An dieser Stelle bleibt noch einiges über die auf Seite 119 als Kampfzone (Kf) bezeichnete bräunliche Abgrenzung der E-Zone gegen das grüne Gewebe zu sagen übrig. Wir sahen, wie nach genügend langer Einwirkung des Pilzes auf das grüne Gewebe eine bis einige Millimeter breite Zone sich gelblich verfärbt (E-Zone) und nach außen hin bräunlich abgrenzt, und daß sich diese Abgrenzung hintereinander in kurzen Abständen wiederholen kann. Im mikroskopischen Bild (s. Abb. 4 und 5) unterscheiden sich die Zellen dieser Zonen von den gesunden vor allem durch starke Bräunung der Zellwände.

In diesen Kampfzonen findet offenbar die lebhafteste Umwandlung der aus dem lebenden Gewebe herausströmenden Bildungsstoffe in Gerbstoff statt, die dort die Wände infiltrieren. Zu prüfen wäre noch, ob diese Infiltration eine mehr oder weniger wirksame Hemmung für die weitere Ausbreitung der Pilzgifte bewirkt.

Ganz Ähnliches findet man bei perthophytischen Holz- und Rindenpilzen häufig in Gestalt von „Wund-, Schutz- oder Holzgummi“, „Kernstoff“, „Schutzhölz“, „Schutzkernmantel“ usw., wie unter anderem bei Münch (9, 10) dargestellt ist. Um den falschen Kern der Buche kommt es auf diese Weise zu wolkenartigen Bildungen (Jahn, 6, Münch, 9).

Die Kampfzonen sind auch noch nach der Erfrierung der E-Zone in der T- oder P-Zone im mikroskopischen Schnitt deutlich als dunkelbraune Abgrenzungen mit meist völlig verstopften Zellen zu erkennen (s. Abb. 4, linker Rand von P).

#### G. Kennzeichnung der Wirkungsweise des Krebspilzes.

Die im vorstehenden dargestellte Wirkungsweise des Pilzes unterscheidet sich in wesentlichen Punkten von den bisher bekannten Erscheinungen der Parasitie, Perthophytie (11) und Saprophytie.

Daß der Pilz von einer schon vorhandenen Infektion aus nicht parasitisch weiter zu wachsen imstande ist, habe ich bereits unter B ausgeführt, denn stets erwies sich das Rindengewebe so lange als unzugänglich für den Pilz, wie es noch am Leben war. Ebenso ist auch für das erste Eindringen nachgewiesen, daß ein Befall lebender Rinde in der Natur nicht beobachtet werden kann (14).

Am ehesten könnte man noch von einer der Perthophytie oder der Saprophytie verwandten Lebensweise sprechen. Während aber der Perthophyt aktiv durch Giftstoffe das Gewebe tötet, um dann von ihm zu leben, der Saprophyt nur bereits durch andere Ursachen abgetötetes Gewebe durchwachsen kann, nimmt *Dasyscypha Willkommii* eine Mittelstellung ein, indem er das lebende Gewebe durch Ausscheidungen zu verändern, aber nicht zu töten vermag und erst nach Erfrierung des durch seine Einwirkung frostempfindlich gewordenen Gewebes vordringen kann. Es genügt also nicht, die Lebensweise des Pilzes einfach als Saprophytie aufzufassen, weil er ja an dem pathologischen Vorgang aktiv beteiligt ist, und es genügt ebensowenig, sie als Perthophytie zu bezeichnen, weil die Aktivität des Pilzes nicht zu einer Tötung des Gewebes ausreicht.

Für diese neuartige Wirkungsweise schlage ich daher die neue Bezeichnung **Thryptophytie** vor, gebildet nach dem Verbum *θρύπτειν* = weichlich machen. Unter diese Bezeichnung müßten in Zukunft alle die Pilze eingeordnet werden, die auf irgendeine Weise das Wirtsgewebe, ohne es zu töten, so verändern, daß dieses

schließlich durch andere Ursachen, im vorliegenden Fall durch Frost, getötet und hierauf vom Pilz besiedelt werden kann.

Die Einführung dieser neuen Bezeichnung ist besonders deshalb notwendig, weil ganz ähnliche Vorgänge auch bei anderen Pflanzenkrankheiten beobachtet werden können oder wenigstens wahrscheinlich sind. Es handelt sich dabei allerdings nur um Vermutungen, die noch der Bestätigung durch Untersuchungen bedürfen.

Als Beispiel möchte ich nur die folgenden Fälle anführen, auf die mich Herr Prof. Münch auf Grund seiner früheren Beobachtungen aufmerksam machte:

Beim Frostkern der Buche (Rohde, 15) scheint ein Pilz jahrelang ohne die Fähigkeit, sich weiter auszubreiten, im Stämme zu sitzen, bis ein Frost ihm zu Hilfe kommt und das Holz auf eine gewisse Strecke in seiner Umgebung abtötet, worauf er dieses tote Holz rasch durchwächst und unter Umständen bis zur Weißfäule zersetzt. Weiter scheinen hierher auch die besonders durch die Virusforschung in großem Maße aufgedeckten Kettenwirkungen zu gehören. Ich denke dabei vor allem an Fälle wie Befall durch Läuse oder Virusarten, die eine gesteigerte Empfindlichkeit der befallenen Pflanze für Frost- oder Dürreschäden oder auch eine allgemeine Schwächung und damit Empfänglichkeit für Parasiten anderer Art zur Folge haben. So könnte man sich z. B. das sogenannte Tannensterben, das besonders nach Trockenjahren (Wiedemann, 20) beobachtet werden kann, folgendermaßen erklären: Durch den Befall mit der Nadel- und Rindenlaus wird die Widerstandsfähigkeit des Baumes gegen Dürre stark herabgesetzt. Zum eigentlichen Tannensterben, dem katastrophalen Absterben ganzer Bestände, kommt es dann, wenn in abnorm trockenen Jahren das durch den Lausbefall dürreempfindlich gewordene Gewebe vertrocknet. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre auch die, daß durch den Lausbefall die Rinde frostempfindlich würde und dann in kalten Wintern erfröre. Diese Annahme ist besonders deshalb naheliegend, weil nach besonders harten Wintern stärkeres Absterben der Tanne beobachtet wird.

#### H. Notwendige ergänzende Versuche.

Als Ergänzung zu der vorliegenden Arbeit wäre noch der Versuch wünschenswert, Krebsbildung an Lärchenstämmchen künstlich durch Infektion und Darbietung von abwechselnd Plus- und Minustemperaturen zu erzeugen. Untersuchungen, die ich in dieser Richtung an abgeschnittenen Lärchenstämmchen ausführte, hatten leider nicht den gewünschten Erfolg, wenn auch gewisse Beobachtungen an ihnen für die Richtigkeit unserer Auffassung sprachen. Meist siedelten sich sehr bald andere Pilze (u. a.

*Botrytis*) auf den nach kurzer Zeit kränkelnden Stämmen an und machten eine Auswertung unmöglich.

Aufschlußreich versprechen ferner Untersuchungen über die Bedingungen zu sein, unter denen die E-Zone besonders kräftig gebildet werden kann. Wie auf Seite 117 angedeutet wurde, scheint dabei der Wassergehalt der Rinde nicht ohne Bedeutung zu sein. Im Zusammenhang damit wäre außerdem zu klären, ob die sich dabei bildende Kampfzone mehr oder weniger für die Pilzausscheidungen undurchdringlich ist, bzw. unter welchen Bedingungen sie diese ihr offenbar zukommende Eigenschaft verliert.

Besonders wertvolle neue Erkenntnisse dürften auch aus einer genauen chemischen Analyse der einzelnen Zonen zu erwarten sein, denn bereits die nur wenig umfangreichen Voruntersuchungen, die ich in dieser Richtung anstellte, führten zu recht interessanten Aufschlüssen.

Schließlich bedürfen noch die Bedingungen einer Klärung, unter denen das Vordringen des Pilzes in die durch Frost getötete E-Zone vor sich geht. Wie schon vorgetragen, besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß dabei der Feuchtigkeitsgehalt dieses toten Rindengewebes eine Rolle spielt, und zwar in dem Sinne, daß der Pilz erst nach einer gewissen Abtrocknung dieses Gewebes eindringen kann. Damit würde die Theorie Münchs von der Bedeutung des Luftgehaltes für das Pilzwachstum in eingeschränktem Maße bestätigt.

## II. Einiges zum Apfel- und Buchenkrebs.

Im Zusammenhang mit den Versuchen über den Lärchenkrebs untersuchte ich auch einige Apfel- und Buchenkrebs, ohne allerdings zu entscheidenden Ergebnissen zu gelangen. Die dabei gemachten Beobachtungen möchte ich aber doch hier ganz kurz mitteilen, da sie vielleicht geeignet sind, für eingehendere Untersuchungen eine Unterlage zu bilden.

Apfel- und Buchenkrebs, wie überhaupt die meisten Laubholzkrebse, werden durch Pilze der Gattung *Nectria* erzeugt. An den mir vorgelegenen Stücken konnte ich *Nectria galligena* (an Apfel) und *N. ditissima* (an Buche) nachweisen. Das Vordringen dieser Pilze soll ebenfalls wie beim Lärchenkrebs im Frühjahr oder Herbst stattfinden. Infektionsstellen sind auch hier in der Regel Frostwunden, besonders an Astwurzeln, die, wie schon Goethe (2) und Nördlinger (12) feststellen konnten, sehr frostgefährdet sind.

Ich vermutete daher die gleichen Verhältnisse wie beim Lärchenkrebs und stellte die gleichen Versuche wie mit diesem an. Diese Versuche hatten jedoch sämtlich negative Ergebnisse. Es gelang weder durch Veränderung des Wassergehaltes der Krebsstücke noch durch Einwirkung von Kälte (bis  $-11^{\circ}$ ), den Krebspilz zu weiterem Vordringen zu bringen. Daß tatsächlich in allen verwendeten Krebsen der *Nectria*-

pilz vorhanden war, bewiesen die zahlreich der toten Rinde aufsitzenden karminroten Peritheciën sowie mehrfach durchgeföhrte Abimpfungen aus dem Krebstiel.

Dagegen bestätigte sich die bereits auf Seite 131 erwähnte Beobachtung Münchs, daß das Gewebe in der Umgebung der getöteten Rinde bei Auslaugung in Wasser (Methode s. S. 132) gegenüber dem gesunden Gewebe stärker gefärbte Lösungen ergibt. Schon beim Abschälen der Epidermis zeigt sich, daß das noch lebende Gewebe um den Krebskern herum sich rasch kräftig rot bis orange verfärbt, während das gesunde Gewebe (G) und tote (P — verpilzt, T — unverpilzt) Gewebe nur geringe Verfärbungen hervorruft.

In gleicher Weise wie beim Lärchenkrebs wurden auch die Werte für das Gesamtdarrgewicht, das Darrgewicht des Wasserlöslichen, der Wassergehalt und das Frischgewicht der verschiedenen Gewebe ermittelt. Die dabei erhaltenen Werte, auf deren Abdruck verzichtet werden kann, stimmen für A und G mit dem Befund beim Lärchenkrebs überein, d. h. G weist immer gegenüber A die niedrigeren Werte auf. Für P und T lagen die Verhältnisse offenbar ähnlich wie beim Lärchenkrebs, doch mußte auf ihre Auswertung verzichtet werden, weil zu wenig Bestimmungen vorlagen.

Während über etwaige Volumveränderungen der Rinde unter dem Einfluß des Krebsbefalles beim Lärchenkrebs, wie oben mitgeteilt, nichts ausgesagt werden kann, fiel beim Apfelkrebs sofort in die Augen, daß am Rand der toten Krebsstelle die Rinde stark gewuchert und verdickt war. Dieses Grenzgewebe zeichnet sich durch schwammige, großzellige Struktur aus, was beim Lärchenkrebs nach der Abb. 4 und 5 nicht der Fall ist.

Die Untersuchung wurde jedoch beim Laubholzkrebs nicht weit genug fortgeführt, um entscheiden zu können, ob dieser von gleicher Natur und Entstehungsweise ist wie der Lärchenkrebs.

### Zusammenfassung.

Der Krebspilz der Lärche *Dasyphypha Willkommii* kann in lebendes Rindengewebe der Lärche nicht eindringen. Jedoch ist er an der jährlichen Ausbreitung des Krebses in der Vegetationsruhe ursächlich beteiligt, indem er von der durch ihn besetzten toten Rindenstelle aus das umgebende Rindengewebe in einer wenige Millimeter breiten Zone so verändert, daß es schon bei ganz geringen Frösten erfriert. In das so getötete Gewebe dringt der Pilz ein, um von hier aus eine weitere Zone in gleicher Weise frostempfindlich zu machen.

*Dasyphypha Willkommii* kann deshalb weder als Parasit, noch als Perthophyt, noch als bloßer Saprophyt bezeichnet werden. Für seine indirekte pathogene Wirkungsweise wird die Bezeichnung **Thryptophytie** vorgeschlagen, die auch für mehrere andere Pathophyten zutreffen dürfte.

Die frostempfindliche Zone kommt dadurch zustande, daß osmotisch wirksame Zellinhaltsstoffe in osmotisch weniger wirksamen Gerbstoff umgewandelt werden, wodurch die osmotische Konzentration des Gewebes bedeutend herabgesetzt wird. Damit ist ein Zustrom von Bildungsstoffen und Wasser in die Nähe der Krebsstelle verbunden, der eine nachweisbare Substanzenreicherung zur Folge hat.

Die Korkschicht wirkt im allgemeinen nicht hemmend auf das Pilzwachstum. Nur wenn sie sich von dem lebenden Gewebe in der Weise abhebt, daß ein Spalt zwischen verpilztem und lebendem Gewebe gebildet wird, unterbleibt an dieser Stelle das Vordringen des Pilzes, was in der Regel an der Längsseite der Krebsstelle eintritt.

Ähnliche Verhältnisse wie beim Lärchenkrebs wurden bei dem durch *Nectria* verursachten Laubholzkrebs gefunden. Doch bleibt dahingestellt, ob dieser in gleicher Weise durch Wechselwirkung zwischen Frost und Pilz entsteht.

### Benutztes Schrifttum.

- 1 Day, W. R. The Relationship between Frost Damage and Larch Canker. *Forestry*. Vol. 5. Number 1. 1931.
- 2 Goethe, R. Die Frostschäden der Obstbäume. Berlin 1883.
- 3 Hartig, R. Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institut I. 1880.
- 4 Hartig, R. Lehrbuch der Baumkrankheiten. 3. Auflage. 1900.
- 5 Hiley. The Fungal Diseases of the Common Larch. Oxford 1919.
- 6 Jahn, E. Der Frostkern der Rotbuche. *Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen*. 1931. Heft 8.
- 7 Langner, W. Über die Schüttekrankheit der Kiefernadel. *Phytopathologische Zeitschrift*. Band V, Heft 6. 1933.
- 8 Münch, E. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. *Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft*. 1909.
- 9 Münch, E. Über krankhafte Kernbildung. *Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft*. 8. Jahrgang. 1910.
- 10 Münch, E. Versuche über Baumkrankheiten. *Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft*. 8. Jahrgang. 1910.
- 11 Münch, E. Über einige Grundbegriffe der Phytopathologie. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten* 39. 1929.
- 12 Nördlinger. Die Septemberfröste 1877 und der Astwurzelschaden (Astwurzelkrebs) an Bäumen. *Centralblatt für das gesamte Forstwesen*. 4. Jahrgang. Wien 1878.
- 13 Pfeiffer. Der osmotische Wert im Baum. *Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik*. 19. Band. Berlin 1933.
- 14 Plaßmann, E. Untersuchungen über den Lärchenkrebs. Neumann, Neudamm 1927.
- 15 Rohde, Th. Die Frostkernfrage. *Mitteilungen aus Forstwirtschaft und Forstwissenschaft*. IV. Jahrgang. 1933.
- 16 Sorauer. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 1. Auflage. 1874.
- 17 Tumanow, J. J. Das Abhärten winteranueller Pflanzen gegen niedere Temperaturen. *Phytopathologische Zeitschrift*. Band 3. 1931.
- 18 Ursprung und Blum. Zwei neue Saugkraftmeßmethoden. *Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik*, 72. 1930.
- 19 Walter, H. Die Hydratur der Pflanze. Fischer, Jena. 1931.
- 20 Wiedemann, E. Untersuchungen über das Tannensterben. *Forstwissenschaftliches Centralblatt*. 49. Jahrgang. 1927.
- 21 Willkomm. Die mikroskopischen Feinde des Waldes. Heft II. 1867.

# Experimentelle Untersuchungen über den Befall des Weizens mit *Penicillium*.

Von

Alfred Noll, Landsberg (Warthe<sup>1</sup>).

Mit 6 Textabbildungen.

Inhaltsverzeichnis: I. Einleitung. — II. Allgemeines über die Gattung *Penicillium*. — III. Das Krankheitsbild. — IV. Die am Weizensaatgut aufgefundenen Penicillien. — V. Infektionsversuche. — VI. Der Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit. — VII. Die Ausbreitung des Pilzes in der Weizenpflanze. — VIII. Der Einfluß von Druschverletzungen des Saatgutes: 1. Nachweis von Druschverletzungen. 2. Der Einfluß von Druschverletzungen auf den *Penicillium*-Befall. 3. Die Bedeutung der einzelnen Verletzungsarten. 4. Untersuchung einer Anzahl Weizen- und Roggensaatgutproben auf ihre Anfälligkeit gegen *Penicillium*. — IX. Bekämpfung. — X. Zusammenfassung der Ergebnisse. — XI. Literaturverzeichnis.

## I. Einleitung.

So wohlbekannt *Penicillium* als Schädling gespeicherter Getreidefrüchte ist, so wenig bekannt ist es als Schädling der Getreidepflanze, z. B. des Weizens. Vorhandene Angaben beziehen sich zumeist auf Keimungsstadien, seltener auf ältere Pflanzen. Diese Tatsache ist erklärlich, denn die Krankheitssymptome sind wenig charakteristisch und entgehen daher leicht der Beobachtung.

In vorliegender Abhandlung wurde versucht, das Verhältnis von *Penicillium* zur Weizenpflanze zu klären und die Bedeutung der Beziehungen in das rechte Licht zu rücken. Aus dieser Zielsetzung ergab sich u. a. die Notwendigkeit, das Krankheitsbild in mancher Hinsicht zu ergänzen. Besondere Aufmerksamkeit mußte der Untersuchung der Ursache des Befalles und ihrer praktischen Bedeutung zugewandt werden. Zur Feststellung des Einflusses verschiedener äußerer Umstände auf den Befall war die Erarbeitung verschiedener Infektionsmethoden erforderlich. Gestiegener Wert wurde auf die Feststellung des Einflusses der Keimbettfeuchtigkeit auf den Umfang der schädigenden Wirkung von *Penicillium* gelegt. Die noch bestehende Problematik einer chemischen *Penicillium*-

<sup>1)</sup> Dissertation der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der Philosophischen Fakultät zu Leipzig.

bekämpfung wurde durch die Prüfung einer Reihe von Beizmitteln vor Augen geführt und gleichzeitig der Weg für eine wirksame Vorbeugung gewiesen.

Zur Wahrung einer einheitlichen Linie kam vor allem eine bestimmte Weizensorte zur Verwendung (Peragis-Sommerweizen).

Es sei betont, daß im allgemeinen die in Frage kommenden Penicillien als Ganzes in Betracht gezogen und eine bestimmte Spezies nur in einigen Fällen besonders berücksichtigt wurde.

## II. Allgemeines über die Gattung *Penicillium*.

Bezüglich der systematischen Stellung der Gattung *Penicillium* verweise ich auf die Übersicht von Winter (40), bezüglich der Charakteristik der Gattung auf die Arbeiten von Westling (39), Wehmer (37), Stoll (31), Biourge (1), Brefeld (2) und Gäumann (8).

Die Hyphe ist septiert. Sie ist wenig charakteristisch, da ihre Form stark variiert und selbst die gleiche Hyphe an verschiedenen Stellen abweichende Verhältnisse aufweisen kann. Die Zellen der Konidiengeneration sind ein- bis zweikernig, zylindrisch, langgestreckt oder kurz und mitunter blasig aufgetrieben. Der Zellinhalt besteht aus vakuolenreichem Plasma mit eingelagerten Ölträpfchen und ist meist farblos. Bei gewissen Formen kann das Hyphenende zu kleinen kugeligen Zellen anschwellen, die später als sogenannte Oidien abgeschnürt werden. Zwischen den Hyphen werden häufig Calciumoxalatkristalle verschiedener Form angetroffen. Eine Ansammlung von Hyphen pflegt als Rasen oder Decke bezeichnet zu werden.

Die Ausbildung der Rasen ist für manche Spezies sehr charakteristisch. Es handelt sich um kompakte oder lockere, sich meist zentral ausbreitende, filzige, wollige, körnige oder sammetartige Gebilde. Einige Spezies zeichnen sich durch die besondere Struktur der peripheren Teile des Rasens aus. Die Farbe der Oberseite ist bei den einzelnen Spezies verschieden; ihr Bereich liegt meist zwischen dunkelbraun, grün und grünblau und röhrt von der Färbung der Konidien her.

Der Fruchträgerstiel, eine einfache Abzweigung einer Hyphe, ist an seinem oberen Ende im Gegensatz zur Gattung *Aspergillus* nicht anschwollen. Von ihm zweigt eine schwankende Anzahl kurzer Hyphen, die Metulae, ab. An diesen wiederum sitzen zylindrische, nach oben meist zugespitzte Zellen, die Sterigmen, deren Anzahl ebenfalls nicht konstant ist. Diese schnüren die Sporen ab, welche rund bis ellipsoid, meist glatt, selten warzig sind und in langen Ketten ausgebildet werden.

So sehr die Anzahl der Organe innerhalb der einzelnen Spezies schwankt, so konstant sind die Maßverhältnisse, insbesondere die der Sterigmen und Sporen.

Die Ascusfrüchte stellen kugelig-knollige, farbige Gebilde verschieden Charakters dar, die bei etwa 4 bis 5 Spezies genauer bekannt sind. Die Rinde ist pseudoparenchymatisch oder besteht aus locker verwebten Hyphen, außerdem kann noch eine gelbe Mycelhülle auftreten. Die Ascussporen in den Ascis sind ellipsoid und mit derbem, glattem, warzigem oder leistenförmig verdicktem Epispor mit oder ohne Längsfurche versehen.

Zur Diagnose einer Spezies kann die Ascusgeneration wegen ihres seltenen und sporadischen Auftretens meist nicht herangezogen werden, hierzu dienen daher die Merkmale der Konidiengeneration, und zwar Aussehen der Decken, Maßverhältnisse des Konidienträgers, Form und Größe der Sporen usw. Eine besondere Bedeutung kommt der Heranziehung ernährungsphysiologischer Eigentümlichkeiten zu auf Grund der Erfahrung, daß das Verhalten der einzelnen Spezies auf verschiedenartigen Nährböden sehr unterschiedlich sein kann (Wehmer, 38). Auch die Abweichungen in den Temperaturansprüchen sind für diagnostische Zwecke geeignet. Die Farbe der Decken kann je nach Alter stark variieren.

Da sich die Erkenntnis der Notwendigkeit einer eingehenden Berücksichtigung morphologischer und physiologischer Eigenschaften erst in den letzten Jahrzehnten durchgerungen hat, muß notwendigermaßen vielen früheren Speziesbestimmungen eine gewisse Skepsis entgegengebracht werden. Dies gilt vor allem für das *Penicillium glaucum*. Da diese Bezeichnung in der Literatur sehr oft auftaucht, verdient sie an dieser Stelle besondere Aufmerksamkeit. Westling (39) sagt: „Mit *Penicillium glaucum* haben die Physiologen nämlich beinahe jeden grünen Schimmelpilz identifiziert, ohne doch näher auf eine Untersuchung auf dessen Aussehen einzugehen.“ Wehmer (37) führt aus: „... offenbar existieren da mehrere einander sehr ähnliche Spezies, die in der Literatur unter diesem Sammelnamen gehen.“ In Anbetracht der bis heute noch nicht vollständig geklärten Nomenklaturfrage spricht denn Wehmer auch von einer Formengattung.

Die meisten Vertreter der Gattung sind unter dem Namen „Schimmel“ als Saprophyten Bewohner von toten Vegetabilien, überhaupt von organischer Substanz aller Art und in dieser Hinsicht an Anspruchslosigkeit und Häufigkeit unter den Pilzen kaum zu erreichen. Zu dieser Tatsache stehen die Fälle von Parasitismus im umgekehrten Verhältnis, wobei den Penicillien auch dann nur die Rolle mehr oder weniger weitgehender Wund- und Schwächeparasiten eingeräumt wird. Zumeist handelt es sich um den Angriff auf lagernde Früchte, wie Getreide und Obst, oder um Leguminosensamen, viel seltener um wachsende Pflanzenteile.

Befall von Obst durch Penicillien, die „Grünfäule“, wird oft beschrieben, unter anderem von Potter (26), Dorn (5) und Schneider-Orelli (29); auch von parasitischem Auftreten auf Zwiebeln ist vielfach die Rede, z. B. bei Sorauer (30). — Auf die Penicillien als Saatgutverderber soll an späterer Stelle eingegangen werden. Nach Winter (40)

vermag *Penicillium* Blüten zu schädigen; auch holzzerstörend kann es nach Angaben von Ward (36) auftreten.

Soweit Angaben über die Wirkungsweise von Penicillien auf lebende Pflanzenteile vorliegen, handelt es sich um Ausscheidungen von organischen Säuren oder nicht näher bezeichneten Enzymen; Johann (17) stellte große Mengen Oxalsäure in einem Dekokt verschimmelter Maisfrüchte fest, welche die Pflanzen zum Absterben brachten; als Erreger wird *Penicillium oxalicum* genannt. Nobécourt (23 und 24) beobachtete ähnliche Wirkungen von Nährösungen, in denen *Penicillium expansum* gewachsen war. Der gleiche Autor berichtet ferner über pektinauflösende Wirkungen von „*Penicillium glaucum*“ an 200  $\mu$  dicken Rübenschichten, die 6 Stunden in Raulinscher Nährösung gelegen hatten, in der der Pilz kultiviert worden war. (Das Enzym wurde im übrigen bei +60° C zerstört.)

Über den Mechanismus des Vordringens der Hyphen in die Wirtspflanze sind wir wenig unterrichtet. Johann (16) beobachtete bei *Penicillium oxalicum* sowohl inter- als auch intrazellulare Fortbewegung. Nach Schellenberg (27) vermag *Penicillium* die Epidermis zu durchbohren, allerdings nur die jugendlichen Gewebe, deren Zellwände aus Hemizellulosen bestehen und noch nicht kutinisiert sind.

### III. Das Krankheitsbild.

Die folgende Beschreibung des Krankheitsbildes soll sich auf die unter normalen Wachstumsverhältnissen äußerlich am Saatkorn und an der aus ihm hervorgehenden Pflanze makroskopisch erkennbaren Symptome eines Befalles durch *Penicillium* beziehen.

Eingehende Beschreibungen über Schimmelbildung an lagerndem Getreide finden wir u. a. bei Buchwald (3) und Morgenthaler (21). Die Schilderungen beider Autoren haben, soweit es sich um Ort und Art der Erscheinung handelt, viel Gemeinsames mit den in der Folge bei keimendem Getreide zu schildernden Verhältnissen.

Das erste und zugleich auffälligste Anzeichen ist die Entstehung charakteristischer Pilzrasen am ausgesäten Weizenkorn. Die Erscheinung als solche ist bekannt und besonders bei Keim- und Triebkraftbestimmungen häufig festzustellen. Zum genauen Studium dieses Krankheitsbildes wurden anfällige Weizenkörner in eine mit einer Glasplatte bedeckte, mit Sand gefüllte Keimschale gelegt und bei +20° C aufgestellt. (Wassergehalt des Sandes: 60% Sättigung der W. K.). Am 3. bis 4. Tage nach dem Auslegen entwickelten sich, namentlich an den Randpartien der Embryodecke, seltener an der Bauchfurche, am Bartende oder an anderen Stellen der Körner zuerst hellblaugrüne, später dunkler und graugrün werdende dichte Pilzrasen. Der Pilz wuchs in den folgenden Tagen weiter und hatte nach etwa zehn Tagen seine Vegetation und Fruktifikation am Saatkorn abgeschlossen. Auffallend war die Tendenz, die basalen Teile von

Koleoptile und Wurzel der aus solchen Körnern hervorgegangenen Weizenpflanzen zu umwachsen. Die gleiche Beobachtung machte Johann für *Penicillium oxalicum* an Maispflanzen.

Das Auffinden der *Penicillium*-Rasen bereitet keine Schwierigkeiten, wenn die Weizenkörner auf Sand oder in Ziegelgrus liegen. Im Boden ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß der Pilzrasen, besonders im Alter, leicht abbröckelt und die Körner dann pilzfrei erscheinen.

Beobachtungen über Besonderheiten in dem Aussehen der aus verpilzten Körnern hervorgehenden Keimlinge sind oft gemacht worden. Leider ist den meisten Angaben nicht zu entnehmen, ob die beobachtete Schimmelbildung primär oder sekundär war. Dies gilt vor allem für beobachtete Keimungshemmungen. Ebensowenig Wert haben die Angaben, in denen der Sammelbegriff „Schimmel“ gebraucht wird. Nach Harz (10) kommen an Saatgut etwa 14 verschiedene Schimmelpilze vor, woraus erhellt, daß Angaben ohne Gattungsbezeichnung wenig besagen. Zahlreiche Beobachtungen beziehen sich auf die Verhältnisse bei überfeucht gelagertem und später ausgesätem Getreide. Eine Berücksichtigung solcher Literatur hat nur bedingten Wert, da anzunehmen ist, daß das Saatgut infolge anormaler, durch das ungünstige Lagern selbst bedingter physikalischer und chemischer Einflüsse schon unmittelbar mehr oder weniger geschädigt wurde. Gentner (9) berichtet, daß der „Pinselschimmel“ einen zerstörenden Einfluß auf die ersten Entwicklungsstadien des Keimlings auszuüben und namentlich die Wurzeln desselben zum Faulen zu bringen vermag. Lakan (19) und Muth (22) machten die Feststellung, daß an sich keimfähige Weizenkörner durch Schimmelpilze, u.a. durch *Penicillium glaucum* in ihrer Keimung behindert werden können. Nach eigenen Beobachtungen vermochte ein kleiner Prozentsatz verpilzter Weizenfrüchte nur mühsam oder gar nicht zu keimen, während der größere Teil über dieses Stadium hinauskam und keimte. Im ersten Falle pflegten Verkümmерungen der Wurzeln oder des Keimes aufzutreten. Es besteht jedoch Grund zu der Annahme, daß diese Keimungshemmungen nicht immer Befallssymptome waren. Nur unter gewissen Bedingungen — wovon später noch die Rede sein soll — traten unter dem Einfluß des Pilzes tatsächlich ausgesprochene Keimungsbehinderungen auf. (Vergl. Kapitel VI).

Über Befallssymptome nach dem Keimungsstadium der Weizenpflanze ist, wie eingangs erwähnt, wenig bekannt. Die allgemeine Auffassung geht dahin, daß der Pilz nur an Saatgut und Keimlingen auftritt und sich sein Einfluß nur hier äußert. Johann (16) machte die Feststellung, daß *Penicillium oxalicum* imstande ist, Maispflanzen zum Absterben zu bringen, die bereits das fünfte Blatt gebildet hatten. Die basalen Blatteile vergilbten und die Pflanze vertrocknete; der Pilz wirkte sich auch in geringeren Korn- und Stroherträgen aus.

Nach eigenen Beobachtungen, die im Sommer 1934 im Versuchsgut Leipzig-Probstheida an Weizenpflanzen angestellt wurden, machte sich eine Veränderung unter dem Einfluß des Pilzes erst einige Tage nach dem Auftreten der beschriebenen Rasen bemerkbar. Sie bestand in einer allgemeinen, verschiedene Formen annehmenden Schwächung. Die Entwicklung der Weizenpflanze kam teilweise schon in frühen Stadien zum Stillstand. Die Keimlinge gingen noch vor dem Aufgang ein. In den meisten Fällen erreichten sie jedoch die Oberfläche. Etliche der aufgegangenen Pflanzen starben während der Vegetationsperiode ab, und zwar oft erst vor dem Ährenschieben, die meisten jedoch gelangten in mehr oder weniger geschwächtem Zustande bis zur Reife. Die befallenen Pflanzen erschienen nicht so dunkelgrün wie die nicht befallenen. Das Absterben äußerte sich in einem Vergilben und Vertrocknen; die Reifung der überlebenden kranken Pflanzen erfolgte etwa eine Woche später. Während die kranken Pflanzen noch durchaus grün waren, vergilbten die gesunden schon als Zeichen der Reife. Wie eingehende Untersuchungen zeigten, war das längere Grünbleiben der kranken Pflanzen nicht auf vermehrte Bestockung zurückzuführen.

Die beschriebenen, experimentell nachgewiesenen Krankheitssymptome sind leider wenig charakteristisch, so daß ihre Erkennung im Feldbestand nicht ohne weiteres möglich ist. Da außerdem eine Untersuchung älterer verdächtiger Pflanzen auf *Penicillium*-Rasen am Saatkorn aus den früher angeführten Gründen recht schwierig ist, wird es klar, weshalb die soeben beschriebenen Auswirkungen bisher nicht genügend bekannt geworden sind.

Eine besondere Beziehung besteht, wie experimentell festgestellt werden konnte, zwischen *Penicillium*-Befall und der Bildung von Anthocyan in den Koleoptilen von Keimpflanzen. Wurden nämlich infizierte und nicht infizierte Weizenfrüchte bei + 20° C in einer Tiefe von etwa 2 $\frac{1}{2}$  cm zur Keimung ausgelegt und die Pflanzen bei Lichtabschluß bis zu einer Höhe von etwa 7 cm zur Entwicklung gebracht, so bewirkte in diesem Stadium am 12. Juli 1934, 11 Uhr (Temp. + 30° C im Schatten) plötzlich einsetzende, drei Stunden andauernde intensive hochsommerliche Sonnenbestrahlung, daß sämtliche nachweislich nicht befallenen Pflanzen am folgenden Tage in ihren den direkten Sonnenstrahlen zugänglichen Partien der Koleoptilen ein sehr gut erkennbares purpurnes Pigment gebildet hatten, während die nachweislich befallenen Pflanzen unter den gleichen Bedingungen dazu nicht fähig waren. Am 18. Juli 1934 wurde der Versuch mit dem gleichen Ergebnis wiederholt; eine nochmalige Wiederholung am 27. August 1934 brachte nicht in gleichem Maße den früher so deutlich erkannten Effekt. Vermutlich lag die Ursache in der jahreszeitlich bedingten geringeren Intensität der Sonnenbestrahlung. Die Pflanzen wurden in allen Fällen in verschiedenen Böden gezogen. In Anbetracht des Problems einer Sortenunterscheidung

von Getreide auf Grund unterschiedlicher Anthocyanbildung (Gäbner und Straib, 7) dürften diese Feststellungen besonders interessieren.

Bemerkt sei, daß ohne Erfolg im Laboratorium versucht wurde, dieselbe Erscheinung mit Hilfe einer Quarzlampe zu erzielen. Es ist daher anzunehmen, daß die im Quarzlampenlicht vorhandenen Strahlenarten zur Auslösung des Effektes nicht genügten und daß vor allem die im Sonnenspektrum vertretenen langwelligen Strahlen erforderlich sein müssen.

#### IV. Die am Weizensaatgut aufgefundenen Penicillien.

Buchwald (3) nennt als Samenverderber u. a. *Penicillium crustaceum*. Johann (16) identifiziert einen an Maispflanzen parasitisch auftretenden Pilz als *Penicillium oxalicum*.

Von einer großen Anzahl befallener Weizenkeimpflanzen wurden sechs verschiedene grüne Penicillien isoliert<sup>1)</sup>. Eines von ihnen ist für sämtliche künstlichen Infektionen verwandt worden: seine Identifizierung ist nicht einwandfrei gelungen, weshalb eine nähere Beschreibung angebracht erschien.

##### a) Aussehen der Decken.

Zur Kultivierung des Pilzes in Petrischalen wurde folgender Nährboden benutzt:

Pepton „Witte“ . . . . .	1,0 g
Saures phosphorsaures Ammonium .	0,2 g
Salpetersaures Kalium . . . . .	> 0,2 g
Schwefelsaures Magnesium . . . .	0,05 g
Chlorcalcium . . . . .	0,01 g
Traubenzucker . . . . .	10,0 g
Aqua destillata . . . . .	ad 100,0 g

(nach Henneberg)

Hinzu kamen noch 2 % Agar-Agar.

Jede Petrischale wurde mit 10 ccm des Nährbodens beschickt. Eine gleichmäßige Entwicklung der einzelnen Kolonien wurde dadurch erreicht, daß mit einem hakenförmig gebogenen Platindraht in eine bestimmte Zone einer sechs Tage alten Stammkultur gestochen und die Sporen auf gleiche Weise auf Nähragar übertragen wurden. Jede der fünf Platten empfing sechs solcher Impfstellen und damit eine annähernd gleiche Sporenmenge.

Nach etwa sechs bis sieben Stunden erfolgte die Keimung. Am zweiten Tage traten die ersten mikroskopisch sichtbaren Anzeichen einer Mycelentwicklung zutage. Unter der Lupe wurde ein schmutzig-gelbes Mycel sichtbar, dessen zentrale Zone aus büschelig aufwärtsstrebenden und dessen peripherie Zone aus mehr kriechenden Hyphen bestand. Am dritten Tage trat in den inneren Partien der Rasen von etwa 0,75 cm Durchmesser eine mattblaugrüne Färbung als Zeichen der bereits begonnenen Fruktifikation auf. Am vierten Tage waren die Rasen 2 cm groß und mit einem etwa 1/2 cm breiten Saum versehen, der außen

<sup>1)</sup> Vertreter anderer Gattungen als der von *Penicillium* wurden an verletzten Saatkörnern wachsender Pflanzen auffallend selten gefunden.

schwachgelblich, innen mehr weißlich war und schließlich in die Färbung der Konidienmassen überging (Abb. 1). Der Farnton der Deckenoberseite am sechsten Tage entsprach nach Ostwald der Nr. 22—7—61<sup>1)</sup>.

Außerhalb dieses Saumes befand sich noch eine wesentlich schmalere, wenig sichtbare, aus radiär und flach auf dem Nährboden wachsenden Hyphen bestehende Zone. —



Abb. 1.  
Kultur von  
*Penicillium species*  
(4 Tage alt,  
gewachsen bei 20°C  
auf Traubenzucker-  
nährboden.)  
Natürliche Größe.

Die Rasen erschienen rund, flach, kompakt und infolge der dicht gedrängt stehenden Fruchträger sammetartig glatt. Aus dem Zentrum ragten mitunter vereinzelte Fruchträger steil hervor. Am achten Tage schienen das Wachstum und die Fruktifikation beendet. Die oben beschriebene Zone war jetzt kaum mehr erkennbar und verschwand später gänzlich. Der Farnton der Deckenoberseite hatte sich inzwischen wesentlich geändert und war nunmehr als schmutziges Graugrün zu bezeichnen. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß der Farnton von nun an konstant blieb, jedenfalls neun Wochen später keine Änderung mehr aufwies. Die Deckenunterseite erschien ockerfarben bis matt-orange.

### b) Morphologische Verhältnisse.

Zur Untersuchung der morphologischen Verhältnisse wurde der Pilz unter den oben beschriebenen Bedingungen auf erstarrten hängenden Tropfen als Deckglaskultur herangezogen.

Der Bau der Hyphe war sehr verschieden: In dichtem Geflecht fanden sich in erster Linie kurze, oft blasig aufgetriebene, in den lockeren Partien mehr langgestreckte und schmalere Zellen, deren Durchmesser bis auf  $1,5 \mu$  heruntergehen konnte. Die durchschnittliche Breite betrug etwa  $6,5 - 7,6 \mu$ . Der Fruchträgerstiel war etwas dicker und plasmareicher, ähnelte aber im übrigen der Hyphe.

Die Maßverhältnisse der Fruchträgerorgane waren im Gegensatz zu denen der Hyphen recht konstant, besonders die der Sporen: Ihr Durchmesser betrug fast stets  $3,8 \mu$ , der der kleinsten  $3,3 \mu$ . Sie erschienen — auch die neugebildeten — rund und glatt; ihre Zahl schwankte je Kette sehr. Sie lösten sich schwer voneinander und fielen daher meist in langen Ketten ab.

Das Sterigma war zylindrisch, oben zugespitzt, durchschnittlich  $9,5 \mu$  lang und  $3,8 \mu$  breit. Die Zahl der Sterigmen schwankte je Fruchträger beträchtlich.

Die Metula maß durchschnittlich  $13,3 \times 6,5 \mu$ ; die Anzahl war, wie die der Sterigmen, unbestimmt.

Zwischen den Maßen der Fruchträgerorgane wurden folgende ziemlich konstante Beziehungen beobachtet: Die Sporenbreite entsprach der Sterigmenbreite; die Metula-breite der Fruchträgerstielbreite.

Abbildung 2 zeigt die Konidienketten des Pilzes.

### c) Verhalten des Pilzes auf verschiedenen Nährböden.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf etwaige Besonderheiten in Farbe und Struktur der Rasen, Gelatineverflüssigung, Säurebildung, Pigmentbildung usw. Die technischen Einzelheiten der Herstellung der Kulturen werden als bekannt vorausgesetzt und daher hier nicht aufgeführt. Die Kultivierung erfolgte bei  $+20^\circ\text{C}$ .

<sup>1)</sup> Gemessen mit dem Farb- und Lumineszenzkomparator nach Prof. Rojahn und Dr. Heinrici.

### 1. Traubenzucker als C-Quelle.

(Nährboden für Schimmelpilze nach Henneberg. Zusatz von 2% Agar-Agar. Die Zusammensetzung wurde im Zusammenhang mit den morphologischen Untersuchungen genannt).

Das Verhalten des Pilzes ist bereits beschrieben worden (siehe S. 152).

### 2. Zitronensäure als C-Quelle.

(Zusammensetzung des Nährbodens wie oben, doch ohne Agar-Agar und mit 1% Zitronensäure statt 10% Traubenzucker. Kultivierung in Erlenmeyerkolben, beschickt mit 20 ccm der Nährflüssigkeit. Beimpfung durch Bestäubung der Flüssigkeitsoberfläche mit Sporen.)

Am dritten Tage Bildung von weißen, glatten, uhrglasförmig nach oben gewölbten, etwa 2 mm großen Rasen. Auch submerses Mycel. Langsames Wachstum. Am sechsten Tage Durchmesser der Inselchen etwa 1 cm. Deckenunterseite schmutzig-gelb bis leuchtend-orange. Farbton der Oberseite nach Ostwald Nr. 20—7—53. Am achten Tage Oberseite der Rasen hellgraugrün und auffallend heller und grauer als bei 1. am gleichen Tage. Saum der Rasen erscheint hellgrauviolett. Am elften Tage Deckenoberseite graubraun und vollkommen von der Farbe bei 1. abweichend. (Nr. 3—6—61 nach Ostwald).

### 3. Kartoffel.

Schnellste Entwicklung der Rasen; starke Fruktifikation. Oberseite der Decken etwas heller und grüner als bei 1.; Farbton am sechsten Tage nach Ostwald Nr. 24—7—63, sonst keine Besonderheiten.

### 4. Weizenschrotteig.

(Hergestellt aus 1. nicht gekeimten Körnern; 2. zwei Tage gekeimten Körnern; 3. vier Tage gekeimten Körnern.) Verhältnisse wie bei 3.

### 5. Milch.

(Abgerahmt und sterilisiert durch dreimaliges Erhitzen im Dampftopf. 5 ccm/Reagenzglas.)

Am dritten Tage kleine, dünne, bereits durch Konidien gefärbte Rasen. Langsames Wachstum. Am sechsten Tage Deckenoberseite etwas dunkler und bläulicher als bei 1. Auf der Deckenunterseite hellgelbes Pigment. Am achten Tage weiße, etwa stecknadelkopfgroße Mycelflöckchen auf dem Rasen. Obere Schicht der Milch gelblichklarflüssig. Keine Koagulation! Am elften Tage Deckenoberseite von sterilen Hyphen fast ganz überzogen. Obere Hälfte der Milch gelblichklarflüssig. Am vierzehnten Tage Rasenoberfläche von sterilen Hyphen vollkommen bedeckt. Eiweißabbau schreitet fort. Gelbes Pigment der Deckenunterseite verliert sich. Die klare Flüssigkeit reagiert auf Lackmus schwach sauer. Nach etwa vier Wochen Eiweiß vollkommen abgebaut.

### 6. Bierwürze-Gelatine.

(2% Gelatinezusatz. 10 ccm Nährboden/Reagenzglas. Senkrechtes Erstarren.)

Nach sechs Wochen noch keine Anzeichen einer Verflüssigung der Gelatine. Reaktion auf Lackmus neutral. Dunklere Färbung des Mediums unterhalb der Rasen. Ausscheidung klarer Flüssigkeitströpfchen auf der Deckenoberseite.

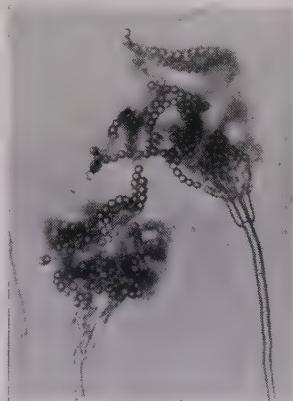


Abb. 2.  
Konidienträger  
von *Penicillium species*  
von einer bei 20°C  
auf Traubenzucker-  
nährboden gewachsenen  
Deckglaskultur.  
Vergr.: 1 : 800.

## V. Infektionsversuche.

Es wurde versucht, dem Pilz jene Bedingungen zu schaffen, die ihn veranlassen sollten, am Saatkorn Fuß fassen und in das Innere des Keimes vordringen zu können.

### 1. Vorarbeiten.

#### a) Verletzung des Saatgutes.

Ausgepfückte Körner wurden zwischen Daumen und Zeigefinger gefaßt und das Endosperm durch Schleifen auf Sandpapier (Nr. 5) in einer Ausdehnung von zirka 1 qmm auf der Rückenseite in der Nähe des Embryos freigelegt. Nach einiger Übung konnten ständig zirka 1000 Körner behandelt werden.

#### b) Benetzung mit einer Sporenaufschwemmung.

Zunächst einige Vorbemerkungen. Die einwandfreie Beurteilung der Virulenz einer bestimmten *Penicillium*-Spezies oder -Rasse erfordert die Beseitigung aller auf natürliche Weise an das Saatgut gelangten und dort stets in großen Mengen zu erwartenden fremden *Penicillium*-keime. Dieses Ziel war leider mit Hilfe der üblichen Saatgutbeizen nicht zu erreichen. Schuld war zum Teil die große Widerstandskraft der *Penicillien* gegen die verschiedensten Gifte, teils die Möglichkeit der Nachinfektion (vgl. S. 180 ff.) und schließlich die bekannte Empfindlichkeit verletzten Saatgutes. Um das Verhalten einer bestimmten Form aber wenigstens qualitativ erkennen zu können, wurde eine Vergleichsserie mit nicht künstlich infiziertem Saatgut eingeschaltet.

Die Sporen gelangten als Suspension an das Korn. Zur Herstellung derselben wurden je nach Bedarf verschiedene Wege eingeschlagen.

1. Zur Gewinnung größerer Sporenmengen wurde der Pilz in keimfrei gemachten und mit Glasscheiben bedeckten Glasschalen auf Pflaumenpreßsaft bei Zimmertemperatur kultiviert. Die Oberfläche der Flüssigkeit wurde mit Hilfe von sterilisierten Wattebüschchen möglichst gleichmäßig mit Sporen bestäubt, der entwickelte, reichlich mit Sporenmassen bedeckte Rasen vorsichtig durch Auslaugen vom Pflaumensaft befreit und dann kräftig mit einer bestimmten Menge Leitungswasser geschüttelt. Durch mehrere Lagen Mullgaze wurden schließlich die Mycelstückchen von den suspendierten Sporen getrennt.

2. Zur Gewinnung geringerer Mengen von Keimen wurden die Sporen des auf Pflaumendekokt-Schrägagar gewachsenen Pilzes durch Schütteln mit sterilisiertem Quarzsand von der Unterlage abgerissen, mit dem Sand innig vermischt, dieser mit Wasser geschüttelt und die entstandene Sporensuspension sofort nach Absitzenlassen des Quarzsandes weiter verwandt.

Die Zahl der in einem Kubikzentimeter der Suspension enthaltenen Sporen betrug in jedem Falle zirka 85 Millionen. Es sei jedoch bemerkt, daß der zur Zählung nötige Aufstrich auf dem Objektträger wegen der Ballenbildung der Sporen zur exakten Erfassung der Zahl nicht gleichmäßig genug erfolgen konnte. Auch andere Methoden brachten aus gleichen Gründen keine besseren Ergebnisse.

Je 100 g Saatgut wurden mit 12 ccm Sporenaufschwemmung in einem Erlenmeyerkolben innig vermischt. Das Saatgut verblieb solange in den Gefäßen, bis die Flüssigkeit aufgesogen war. Zwecks völligen Zurücktrocknens wurde es gleichmäßig auf einer

Unterlage ausgebreitet. Mußte das Zurücktrocknen unter Vermeidung von Verunreinigungen geschehen, dann wurden die Körner unter Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln aus den Erlenmeyerkolben in mehrschichtige, durch Erhitzen auf 140° C sterilisierte große Fließpapierbriefe gebracht, in denen sie durch Schwenken gleichmäßig verteilt wurden und abtrockneten. (Eine geeignete Anwendung fand die Methode im Zusammenhang mit den späteren Beizversuchen.)

## 2. Infektionsversuch.

### a) Gefäßversuch.

Ausgepfückte und daher unversehrte Körner wurden teils in der beschriebenen Weise verletzt, teils unversehrt gelassen und mit einer Sporensuspension bzw. mit Wasser benetzt. Als Gefäße wurden Emailleschalen (Mitscherlich-Untersetzer) benutzt, als Keimbett gesiebter Bausand (Korngröße 2,5 mm). Jedes Gefäß wurde zunächst mit einer 4 cm hohen Sandschicht gefüllt, die Oberfläche derselben mit einem besonderen Hilfsinstrument geebnet und durch einen Marqueur mit 90 der Korngröße entsprechenden Vertiefungen versehen. Die in diese ausgelegten Körner wurden schließlich mit einer 2 cm hohen ebenen Sandschicht überdeckt. Die Gleichartigkeit und Konstanz der Wachstumsbedingungen wurde auch hinsichtlich der Temperatur-, Licht- und Feuchtigkeitsverhältnisse angestrebt. Jedes der Gefäße wurde mit einem zweiten umgestülpten bedeckt und die sich berührenden Randwülste beider mit einem etwa 7 cm breiten aufgeweichten Streifen Packpapier umlegt, der mit zwei Schnüren zu beiden Seiten der Wülste festgebunden wurde. Der hierdurch zustandegekommene Lichtabschluß hatte natürlich eine Übergeilung der wachsenden Pflanzen zur Folge, ein Umstand, der aber belanglos ist, weil sich Infektionsvorgang und Befall im Keimbett, also stets bei Lichtabschluß abspielen.

Unter den gegebenen Verhältnissen war natürlich eine Auswertung nur im jugendlichen Stadium der Pflanze möglich. — Als Maßstab für den Einfluß von *Penicillium* wurde u. a. der Verlust an Trockensubstanz herangezogen. Auf Grund der von mir experimentell festgestellten Tatsache, daß das Verhältnis zwischen den Gewichten ober- und unterirdischer Teile befallener Pflanzen demjenigen nicht befallener annähernd gleichkam, gelangten nur die oberirdischen Teile zur Gewichtsbestimmung. Diese wurde vorgenommen, als die gesunden Pflanzen gegen den Boden des oberen Gefäßes stießen. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 1.

Aus der Tabelle geht hervor, daß schon die künstliche Verletzung des Saatkorns zu sehr erheblichen Befallsziffern führte. Wie einwandfrei festgestellt werden konnte, war dieser Befall auf an den Saatkörnern sitzende Keime zurückzuführen. Bei Behandlung mit Sporenaufschwemmung wurden Befallshöchstziffern erreicht. Sehr auffallend ist die Verminderung des Aufgangs und die gewaltige Abnahme des Trockengewichts, die sich

ebenfalls bei Anwendung der Sporenaufschwemmung am deutlichsten bemerkbar machte.

Tabelle 1.

**Feststellung des Erfolges der künstlichen Infektion von jungen Weizenpflanzen durch *Penicillium*.**

Saatgut durch Anfeilen des Mehlkörpers verletzt und mit Sporen von *Penicillium species* versehen, bzw. nicht verletzt unbehandelt und verletzt unbehandelt gelassen.

Gewächshausversuch.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Gefäße: Emailleschalen.

Keimmedium: Sand (Korngröße bis 2,5 mm).

Wassergehalt des Keimmediums: 60% Sättigung der W. K.

Kornzahl je Serie: 90.

Temperatur: +20° C.

Auswertung: 11 Tage nach der Aussaat.

Zahl der Wiederholungen: 2.

Vorbehandlung des Saatgutes	Geerntete Pflanzen		Trockengewicht der Pflanzen		
	Insgesamt	Befallen	Gesamtgewicht	Einzelgewicht	
	In Relativzahlen				
Nicht künstlich verletzt	Ohne Sporen	100	0	100	100
Künstlich verletzt	Ohne Sporen	98	98	31	32
	Mit Sporen	88	100	10	11

b) Freilandversuch.

Das künstlich verletzte Saatgut wurde teils mit einer Sporensuspension versehen, teils unbehandelt gelassen. Einzelheiten sind der in der Folge angeführten Tabelle 2 zu entnehmen.

Wie am 4. Mai 1934 beobachtet wurde, war der Aufgang der Pflanzen beider Serien gleichartig. Unterschiede im Wachstum machten sich in steigendem Grade erst später bemerkbar. Bei den Laboratoriumsversuchen traten, wie erinnerlich, auch Aufgangsverluste auf, noch mehr aber bei den mit gedroschenem Saatgut durchgeföhrten Freilandversuchen. (Kap. VIII). Eine genügende Erklärung für diese scheinbaren Widersprüche wird sich in den Darlegungen des Kapitels VIII S. 168 ff. finden.

Die zur Reifezeit erfolgte Auswertung zeigte, daß ein großer Teil der aufgelaufenen Pflanzen durch den Einfluß von *Penicillium species* während der Vegetationsperiode eingegangen war. Die trotz der Pilzeinwirkung bis zur Reife gelangten Pflanzen hatten eine beträchtliche Wachstumshemmung erlitten, die in der Länge, der Bestockung und dem Gewicht der Pflanzen zum Ausdruck kam.

Tabelle 2.

**Feststellung des Erfolges der künstlichen Infektion  
von Weizen durch *Penicillium*.**

Saatgut durch Anfeilen des Mehlkörpers verletzt und mit Sporen von *Penicillium species* versehen bzw. verletzt und unbehandelt gelassen.

Freilandversuch (Zuchtgartenmäßige Aussaat. Parzellengröße 0,60 × 2,50 m).

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Bodenart: Mittelschwerer, leicht abbindender, diluvialer, sandiger Lehm. Darunter Diluvialsand.

pH-Zahl: 6,8 (in Wasserausschüttelung).

Niederschläge: April 79,7, Mai 16,4, Juni 29,3, Juli 42,4, August 42,4.

Temperatur (Tagesmittel): April 13° C, Mai 17° C, Juni 21° C, Juli 23° C, August 21° C.

Kornzahl je Serie: 500.

Aussaat: 18. März 1934.

Auswertung: 10. August 1934.

Vorbehandlung des Saatgutes	Geerntete Pflanzen in Relativzahlen		Höhe der Pflanzen		Durchschnittliche Zahl der Bestockungsstriebe		Durchschnittsgewicht der Einzelpflanzen in Relativzahlen	Gewicht der Pflanzen insgesamt in Relativ- zahlen
	in Relativ- zahlen	m m %	m	(D)	in Relativ- zahlen	m m %	m	(D)
Unbehandelt	100	100	± 0,5873 ± 0,97		100	± 0,0490 ± 2,04		100
Mit Sporen versehen	83	87	± 0,7244 ± 1,31	0,9325	91	± 0,0748 ± 4,08	0,0895	75

**Andere Infektionsversuche.**

In einer Reihe von weiteren Versuchen sollte eine Infektion unverletzten Saatgutes erzielt werden. Verschiedene Wege wurden beschritten, leider alle ohne Erfolg. Der Vollständigkeit wegen sei in der Folge kurz erwähnt, wie bei der Infektion vorgegangen wurde.

In einer dieser Versuchsreihen ließ ich die Körner quellen und injizierte den Mehlkörper mit einer Dosis Sporenaufschwemmung aus einer kleinkanülligen Injektionsspritze; den Körnern der Vergleichsserie wurde eine entsprechende Menge reinen Wassers verabreicht. Nach dieser Behandlung wurden die Körner im Freilande ausgelegt.

In einem weiteren Versuch wurde der Acker kurz nach der Aussaat mit großen Mengen der Sporenaufschwemmung durchtränkt, wobei eine Wurzelinfektion erhofft wurde.

Schießlich sollte ein Befall durch gegenseitige Ansteckung im Freilande erzielt werden. Zu diesem Zwecke wurden verletzte Körner im Dampftopf abgetötet, mit Sporen versehen und dann im Freilande paarweise lebende intakte nichtinfizierte und abgetötete Körner dicht nebeneinander ausgelegt. Zum Vergleich gelangte eine entsprechende Anzahl ohne abgetötete in den Boden. Obwohl die toten Früchte starken Schimmelbefall zeigten und der Pilz die eng benachbarten lebenden umwucherte, konnten doch keinerlei Unterschiede zwischen den sich entwickelnden Pflanzen beider Serien festgestellt werden. Eine Ansteckung der vollkommen intakten Körner war also im Freilande unter diesen sicherlich optimalen Bedingungen nicht möglich. Die Nachbarschaft des Pilzes reichte also nicht aus, um zu Erkrankungen der Weizenpflanzen zu führen.

Auch der Versuch, unversehrte Schmachtkörner (Heils Dickkopf und Criegener 104) mit *Penicillium species* zu infizieren, schlug fehl.

## VI. Der Einfluß der Temperatur.

Stoll (31) berichtet, daß „*Penicillium glaucum*“ bei  $8^{\circ}\text{C}$  ebenso gut wächst wie bei  $37^{\circ}\text{C}$ ; Thom (32) wies nach, daß nicht weniger als 14 seiner untersuchten *Penicillium*-Formen imstande waren, bei Temperaturen Mycel zu bilden, die von  $+0,5^{\circ}\text{C}$  —  $+2^{\circ}\text{C}$  schwankten; einige vermochten unter diesen Verhältnissen noch Konidien abzuschnüren. Westling (39) kultivierte eine Anzahl Penicillien bei Temperaturen, die zwischen  $-15^{\circ}\text{C}$  und  $+4^{\circ}\text{C}$  schwankten, wobei er beobachten konnte, daß diese noch Mycel bildeten und demnach nicht unter dem Froste gelitten hatten. Die Anpassung an niedrige Temperaturen kommt auch in der von Höstermann und Noack (15) angeführten Tatsache zum Ausdruck, daß *Penicillium crustaceum* bei Kühlraum-Temperaturen (etwa  $+4^{\circ}\text{C}$ ) gut wachsen konnte, ja selbst bei  $0^{\circ}\text{C}$  noch vorwärts kam.

Das Optimum scheint sich meist in der Nähe von  $+20^{\circ}\text{C}$  zu befinden. Höstermann und Noack führen an, daß es allgemein oberhalb  $+18^{\circ}\text{C}$  liegt; Hilbrig (11) stellte für sein *Penicillium glaucum* ein solches von  $+20^{\circ}\text{C}$  fest, Westling (39) fand für einen ebenso benannten Pilz  $+20$ — $23^{\circ}\text{C}$ .

Das Maximum liegt nach Hilbrig (11) bei  $34^{\circ}\text{C}$ ; Westling (39) schließt aus seinen eingehenden Untersuchungen, daß das Maximum fast durchweg unter  $37^{\circ}\text{C}$  liegt, das Gleiche lassen die 17 von Stoll (31) geprüften Arten erkennen.

Mit der besonderen Art der Temperaturansprüche ist nun die Art des Auftretens als Schädling eng verknüpft. Koehler (18) fand im Boden bei  $+16^{\circ}\text{C}$  an Maispflanzen in erster Linie *Penicillium*, bei  $27^{\circ}\text{C}$  dagegen vor allem *Rhizopus*. Nach Scherpe (28) und Morgenthaler (21) trat bei niedrigeren Temperaturen an Getreidefrüchten, die auf künstlichen Nährboden gelegt waren, hauptsächlich *Penicillium* auf, während bei zirka  $30^{\circ}\text{C}$  *Aspergillus* und *Mucor* vorherrschten.

### Untersuchungen an *Penicillium species*.

An Temperaturen wurden gewählt:  $+4^{\circ}\text{C}$ ,  $+12^{\circ}\text{C}$ ,  $+20^{\circ}\text{C}$ ,  $+30^{\circ}\text{C}$  und  $+37^{\circ}\text{C}$ . Als Nährmedium diente der in seiner Zusammensetzung auf Seite 153 beschriebene Traubenzucker-Nährboden.

Die Kulturen wurden in Petrischalen mit fünffacher Wiederholung angesetzt. Die Untersuchung beschränkte sich auf Beobachtung der Wachstumsintensität der stets runden Pilzdecken. Als Maßstab galt ihr Durchmesser.

Zur Erreichung eines Durchmessers von 2 cm brauchte der Pilz bei  $4^{\circ}\text{C}$  16 Tage. Am besten gedieh er bei  $+20^{\circ}\text{C}$ . Bei  $+30^{\circ}\text{C}$  fanden

sich nur noch kümmerliche Ansätze einer Mycel-Bildung, während sich bei  $37^{\circ}\text{C}$  kein Leben regte.

Das Minimum des Wachstums von *Penicillium species* lag demnach nahe am Nullpunkt und das Maximum wenig über  $30^{\circ}\text{C}$ .

#### Untersuchungen an der befallenen Pflanze.

Die Versuchstechnik ist bereits vom Kapitel V, Seite 156—160 bekannt. Eine Abweichung bestand nur darin, daß die Körner 2 cm tief ausgelegt wurden und die Bodenfeuchtigkeit jetzt etwa 40% Sättigung der W. K. entsprach. Die Auswertung konnte natürlich nicht bei allen Serien zum gleichen Zeitpunkte erfolgen. Das gewünschte Entwicklungsstadium wurde infolge des Einflusses der verschiedenen Temperaturen nicht von allen zur gleichen Zeit erreicht. Als Maßstab diente jeweils der Zustand der Serie „unbehandelt“. Für die Beurteilung der Beeinflussung des Umfanges der schädigenden Wirkung von *Penicillium* durch die verschiedenen Temperaturen wurde die Differenz der Trockengewichte zwischen den Reihen „künstlich infiziert“ und „unbehandelt“ herangezogen. Die Ergebnisse finden sich in nachstehender Tabelle 3.

Die geringste Beeinflussung erfolgte bei  $+20^{\circ}\text{C}$  und die stärkste bei  $+4^{\circ}\text{C}$ . Man erkennt also, daß mit fortschreitender Temperaturniedrigung der Umfang der Schädigung zunahm. Er war bei  $+4^{\circ}\text{C}$  um rund 23% größer als bei  $+20^{\circ}\text{C}$ .

Die Ursache dieses Verhaltens liegt offenbar in den geringen Temperaturansprüchen des Pilzes. Dieser gedeiht noch gut bei  $4^{\circ}\text{C}$ , während das Wachstum der Pflanzen bei dieser Temperatur stockt. Eben keimende Körner waren bereits stark befallen. Es ist anzunehmen, daß sich der Einfluß niedriger Temperaturen an den befallenen Keimpflanzen des Freilandes besonders bei frühzeitiger Frühjahrs- und später Herbstaussaat bemerkbar macht.

#### Der Einfluß der Feuchtigkeit.

Walter (35) machte die bemerkenswerte Feststellung, daß sich bei der relativen Dampfspannung von 85% nur noch *Aspergillus* und *Penicillium* entwickeln konnten und diese somit die geringsten Ansprüche unter den bisher untersuchten Pilzen stellen. Gentner (9) berichtet, daß bei der Keimung unter ungünstigen Feuchtigkeitsverhältnissen „Lagerpilze“ großen Schaden anrichten, vor allem, wenn nicht genügend Luftzufuhr vorhanden ist. Laube (20) erwähnt, daß stark keimbeschädigtes Saatgut (Roggen) unter dem Einfluß mangelnder Bodenfeuchtigkeit eine gesteigerte Aufgangsverminderung erfährt und in diesem Falle von *Penicillium* befallen ist.

Bei den zur weiteren Klärung dieser Frage durchgeföhrten Untersuchungen wurde als Keimbett ein verschieden stark befeuchteter Bau-sand (Korngröße bis 2 mm) benutzt.

Hinsichtlich der höheren Feuchtigkeitsgrade genügte die vorhandene Wassermenge zur Erreichung der gewünschten Pflanzenhöhe, in anderen

Tabelle 3.

**Einfluß der Temperatur auf den Umfang der schädigenden Wirkung von *Penicillium* bei Weizenkeimpflanzen.**

Gefäßversuch.

Saatgut künstlich mit *Penicillium species* infiziert bzw. unbehandelt.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Gefäße: Emailleschalen.

Kornzahl je Versuch: 90.

Zahl der Wiederholungen: 2.

Keimmedium: Sand.

Wassergehalt des Keimmediums: Zirka 40 % Sättigung der W. K.

Aussaat: 3. Juli 1934.

Auswertung nach Erreichung einer Pflanzenhöhe von zirka 17 cm.

Temperatur	Vorbehandlung des Saatgutes	Tag der Auswertung	Nummer 1934	Aufgelaufene Pflanzen		Trockengewicht der aufgelaufenen Pflanzen	
				Stück	in Relativzahlen unbehandelt = 100	Gramm	in Relativzahlen unbehandelt = 100
20° C	Unbehandelt . . .	12. Juli	1	85	100	1,25	100
			2	87		1,36	
			3	85		1,34	
	Künstlich infiziert .	12. Juli	Mittel	85,70		1,32	38,63
			1	76	90,43	0,45	
			2	79		0,57	
12° C	Unbehandelt . . .	16. Juli	3	vakat		0,52	
			Mittel	77,50		0,51	
			1	86	100	1,26	100
	Künstlich infiziert .	16. Juli	2	85		1,29	
			3	85		1,15	
			Mittel	85,30		1,23	
4° C	Unbehandelt . . .	20. August	1	84	100	0,28	100
			2	85		0,32	
			3	80		0,35	
	Künstlich infiziert .	20. August	Mittel	83,00		0,32	
			1	80	92,30	0,25	15,38
			2	75		0,20	
			3	75		0,27	
			Mittel	76,70		0,24	

Fällen liefen aber die Pflanzen auch nach Ablauf von drei Wochen nicht auf. Um in der Lage zu sein, eine etwaige, während jener Zeit erfolgte Einwirkung des Pilzes nachweisen zu können, wurde der Wassergehalt der betreffenden Serien nach Ablauf dieser Zeit auf etwa 50% Sättigung der W. K. erhöht, wodurch das Wachstum gefördert und eine Auswertung in üblicher Weise ermöglicht wurde. Bekanntlich liegt Saatgut oft längere Zeit regungslos in trockenem Boden, um erst bei einsetzenden Niederschlägen zur Keimung angeregt zu werden; der oben eingeschlagene Weg entspricht solchen Verhältnissen. — Nachstehende Tabelle 4 enthält die zahlenmäßigen Ergebnisse.

Die Aufgangsziffern bekunden, daß mit abnehmendem Wassergehalt des Keimbettes die Aufgangsverluste bis zu 3,5% Sättigung der W. K.



Saatgut nicht verletzt (Unbehandelt)	Saatgut verletzt (Unbehandelt)	Saatgut verletzt und mit Sporen von <i>Penicillium species</i> versehen.
Kein Befall	Natürlicher Befall.	Künstlich erzielter Befall.

Abb. 3.

Erfolg einer künstlichen Infektion von Weizen mit *Penicillium species*  
bei geringer Feuchtigkeit des Keimmediums.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Keimbett: Sand.

Wassergehalt des Keimmediums: 6% Sättigung der W. K.

Temperatur: +20° C.

zunahmen und daß unterhalb dieses Wertes ein Aufgang stattfand, der etwa dem bei 50% entsprach, also wieder annähernd normal war. Wir erkennen im übrigen, daß eine bestimmte Feuchtigkeitszone existiert, in der besonders starke Verluste zu verzeichnen waren; diese lag zwischen 8 und 3,5%. Wie Untersuchungen ergaben, waren die Aufgangsverluste auf Keimungsstörungen zurückzuführen.

Der Einfluß der Feuchtigkeitsverhältnisse zeigt sich auch im Gesamtgewicht der Pflanzen eines Gefäßes. Das Ergebnis ist allerdings zum Teil nicht auf eine Schwächung der aufgelaufenen Pflanzen, sondern auf jene Aufgangsverluste zurückzuführen, denn merkwürdigerweise waren die aufgelaufenen Pflanzen gerade innerhalb der Staffelungen, welche besonders große Aufgangsverluste brachten, gut entwickelt und im übrigen pilzfrei. Bei sehr niedrigem Wassergehalt des Keimbettes traten somit

Tabelle 4.

Feststellung des Einflusses der Feuchtigkeitsverhältnisse des Keimmediums auf den Umfang der schädigenden Wirkung von *Penicillium* bei Weizenkeimpflanzen.

Gefäßversuch.

Saatgut künstlich mit *Penicillium species* infiziert bzw. unbehandelt.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Gefäße: Emailleschalen (Mitscherlich-Untersetzer).

Kornzahl je Serie: 180.

Keimmedium: Sand.

Temperatur (durchschnittlich): August 21° C, September 20° C.

Aussaat: 25. August 1934.

Auswertung nach Erreichung einer Pflanzenhöhe von zirka 17 cm.

Sättigung der W. K. %	Vorbehandlung des Saatgutes	Aufgelaufene Pflanzen (Mittel)		Trockengewicht der aufgelaufenen Pflanzen (Mittel)	
		in Stückzahl	in Relativzahlen Unbeh. = 100	in Gramm	in Relativzahlen Unbeh. = 100
50,0	Unbehandelt . .	87	100	1,17	100
	Künstlich infiziert	72	83	0,44	38
25,0	Unbehandelt . .	87	100	1,11	100
	Künstlich infiziert	53,5	62	0,29	26
12,0	Unbehandelt . .	87,5	100	0,99	100
	Künstlich infiziert	50	57	0,27	27
9,5	Unbehandelt . .	87	100	0,95	100
	Künstlich infiziert	43,5	48	0,23	27
8,0	Unbehandelt . .	61,5	100	0,66	100
	Künstlich infiziert	11	18	0,07	11
6,5	Unbehandelt . .	51,5	100	0,89	100
	Künstlich infiziert	2,5	9	0,03	3
5,0	Unbehandelt . .	69	100	0,87	100
	Künstlich infiziert	5,5	8	vakat	vakat
3,5	Unbehandelt . .	32,5	100	0,43	100
	Künstlich infiziert	3,5	11	0,02	4
2,0	Unbehandelt . .	76,5	100	0,93	100
	Künstlich infiziert	68	89	0,22	24
0,5	Unbehandelt . .	86,5	100	1,00	100
	Künstlich infiziert	60	70	0,16	16

entgegen normalen Verhältnissen Aufgangsschäden in den Vordergrund.

Die Ursache für die nachteilige Beeinflussung lag darin, daß sich der Pilz noch gut entwickeln konnte, während die vorhandene Feuchtigkeit zur Keimung der Weizenkörner nicht ausreichte. Eine drei Wochen nach der Aussaat, also vor der Erhöhung des Wassergehaltes des Keimbettes vorgenommene Untersuchung ergab, daß noch nicht oder eben keimende Früchte bereits mit *Penicillium* behaftet waren, Erscheinungen, die unter normalen Verhältnissen nicht beobachtet wurden. -- Die Ergebnisse sind umso bemerkenswerter, als es sich in solchem Falle um Feuchtigkeitsgrade gehandelt hatte, die bereits nahe an diejenigen lufttrockenen Sandes heranreichten. — Abb. 3 veranschaulicht den typischen Einfluß von *Penicillium species* bei niedrigem Wassergehalt des Keimmediums und liefert gleichzeitig, da es sich um eine künstliche Infektion handelt, einen Beitrag für Kap. V.

Es sei bemerkt, daß der Versuch mit einigen Abänderungen wiederholt wurde. Wesentlich war hierbei, daß die Anzucht der Pflanzen bei Tageslicht in Glasschalen erfolgte. Die sich berührenden Ränder der Gefäßpaare wurden diesmal mit Klebstreifen versehen, ein Vorgehen, das wesentliche Arbeitserleichterungen brachte. Unter den gegebenen Bedingungen wurde der Geilwuchs vermieden. Die Staffelung war ähnlich wie früher; zwischen 50% und 12% wurden noch einige Serien eingeschaltet. Auf jede Serie kamen vier Glasschalen mit je 40 Körnern. Die Versuchstechnik entsprach der auf Seite 162 ff. beschriebenen. Die Ergebnisse bestätigten im wesentlichen diejenigen des vorhergehenden Versuches.

## VII. Die Ausbreitung des Pilzes in der Weizenpflanze.

Der Nachweis der Pathogenität von *Penicillium* brachte noch keinen Aufschluß über ihre Natur. Nach den Ergebnissen des Kap. V, S. 159, beruht die Einwirkung nicht auf durch bloße Nachbarschaft des Pilzes zurückzuführenden Einflüssen, z. B. seiner Stoffwechselprodukte; es erschien daher nicht ausgeschlossen, daß der Pilz auch als echter Parasit auftritt. Johann (16) stellt ein solches Verhalten von *Penicillium oxalicum* an Maispflanzen fest und führt hierzu aus: „Infection took place in the embryo region and proceeded up to the mesokotyl. In some instances the mesekotyl was rotted at the base, in other cases it appeared to be clean“. Ferner: „.... Sections, checked by plattings of adjacent areas, showed the hyphae to be both inter- and intracellular. The mycelium was found to invade both the parenchyma and the vascular elements. Some sections indicated that the cells were killed in advance of the mycelium ....“

Nach Köhler (18), ist u. a. *Penicillium* imstande, an Maiskeimlingen Scutellumfäule zu erzeugen.

Zur Untersuchung benutzte ich mit *Penicillium* befallene, etwa 14 Tage alte, auf feuchtem Ziegelgrus bei 20° C gezogene Pflanzen, und zwar die basalen Partien von Halm und Wurzel nebst den benachbarten Teilen des Saatkernes. Die Untersuchung erfolgte an Schnittpräparaten. Die im Prinzip mit den Anweisungen von Sieben übereinstimmende Technik sei im folgenden ganz kurz beschrieben:



Abb. 4.  
Mycel von *Penicillium species*  
im Scutellum.  
(Peragis-Sommerweizen.)  
(Der Pfeil bezeichnet eine Ansammlung von Pilzhyphen).

Die Pflanzenteile wurden durch Überführung in Alkohol steigender Konzentration langsam vollständig entwässert, im Vakuum von etwa noch darin enthaltener Luft befreit, in Xylol, dann in eine Lösung von Paraffin in Xylol gebracht und schließlich in Paraffin von mittlerem Schmelzpunkt eingebettet. Bei den einzelnen Überführungen vermeid ich nach Möglichkeit eine Beschädigung des Objektes. Es erfolgten Medianschnitte. Die Schnittstärke betrug 10  $\mu$ ; dicke Schnitte brachen oder rollten und ergaben daher keine Bänder. Sie wurden mit Eiweißglyzerin auf Objektträger geklebt, in der umgekehrten Reihenfolge wie oben wieder in Wasser überführt, mit Delafield'schem Haematoxylin vorsichtig gefärbt, abermals auf dem Wege über Alkohol in Xylol gebracht und schließlich in Canadabalsam eingebettet. Die Haematoxylin-Färbung erleichterte eine Orientierung auf Grund der farbigen Differenzierung der Gewebekomplexe und bestand in der verschiedenen Nuancierung von Purpur bis Blauviolett. Die Hyphen des Pilzes haben sich von der Umgebung durch die dunkelviolette Färbung ihres stark körnigen Zellinhaltes ab. Die Anfertigung von 800 Schnitten als Dauerpräparate gestattete eine rationelle Untersuchung.

Hyphen traten in besonders starkem Maße zwischen Frucht- und Samenschale auf, fast immer zwischen und mitunter auch in den Aleuronzellen, ferner im Endosperm, das sie vereinzelt durchsetzten, fast regelmäßig, und zwar in dichten Ansammlungen in den Winkeln zwischen Aleuronschicht und Scutellum — an solchen Stellen nicht selten in der parenchymatischen Schicht des zuletzt genannten Organes — weiterhin in dichten Massen auf dem Zylinderepithel desselben und in typischer Weise im Epithel selbst.

In diesem Falle fand sich der Pilz auch oft in den tieferen Teilen des Scutellums, einige Male sogar in den basalen Teilen von Keim und Wurzel. Pilzhyphen wurden, wie schon erwähnt, angetroffen zwischen Frucht-, Samenschale und Aleuronschicht einerseits und Scutellum andererseits, so daß eine Verbindung bestand zwischen jenen Hyphen und den außen am Korn befindlichen. Der Pilz trat auch in der Wurzelscheide auf, die er in vielen Fällen vollständig durchsetzte.

Einige Präparate zeigten Verletzungen des Perikarpes und der darunter befindlichen Gewebe, und zwar vor allem in der Nachbarschaft des Embryos auf der Rückenseite des Kernes; sie waren von Hyphenmassen ausgefüllt.

Das in den genannten Gewebeteilen vorhandene Mycel glich weitgehend dem an den äußeren Kornpartien vorhandenen; es handelte sich fast immer um lange Stränge mehr oder weniger dicht verflochtener Hyphen von geringer Breite (etwa  $1,5 \mu$ ). In den Wirtszellen, vor allem im Zylinderepithel des Scutellums, bildeten sie knäuelartige, dichte, etwas an endotrophe Mykorrhizen erinnernde Verschlingungen. (Abb. 4).

Die Identifizierung des im Innern von Korn und Pflanze aufgefundenen Pilzes erfuhr durch den besonderen Umstand eine wesentliche Erleichterung, daß es durch die vorsichtige Behandlung des Objektes gelang, die außen am Korn befindlichen Rasen nebst Konidienträgern und einer großen Anzahl Konidien unversehrt zu präparieren. Die Form des Pilzes zeigte keinerlei Abweichungen.

Der engere Infektionsbezirk scheint in den Teilen des Mehlkörpers zu liegen, die den Embryo umgrenzen. An dieser Stelle trat mit großer Häufigkeit Mycel auf. Außerdem wurden an den Schnittpräparaten meist dort Verletzungen vorgefunden, in die Mycelmassen eindrangen.

Der Befall des Scutellums war für *Penicillium* typisch; man kann daher mit Koehler von einer Scutellumfäule sprechen. Die Art des Eindringens des Pilzes in lebende Gewebe der Weizenpflanze berechtigt, ihn als Parasiten zu betrachten, und zwar als einen sehr aggressiven Wundparasiten, falls man eine Beschädigung des Endosperms im eigentlichen Sinne als Wunde bezeichnen will.

Zur Untersuchung älterer Pflanzenteile, insbesondere von Halmknoten, wurde ein anderer Weg eingeschlagen. Frische Pflanzenteile wurden auf einen Nährboden mit der Absicht gelegt, etwa im Pflanzeninnern vorhandene Pilzteile so weit zur Weiterentwicklung anzuregen, bis sich ihre Anwesenheit durch Ausbildung der bekannten Rasen auf dem betreffenden Pflanzenstück oder benachbarten Nährboden bemerkbar machen würde. Porter (25) wies auf solche Art an Halmknoten von Getreidepflanzen verschiedene Pilze nach; *Penicillium* spielte allerdings hierbei keine große Rolle.

Bei den Untersuchungen kam es vor allem darauf an, festzustellen, ob der auf künstliche Weise an das Saatgut gebrachte Pilz in den oberirdischen Teilen der Weizenpflanze anzutreffen sein würde. Untersucht wurden vier verschiedene Stadien von der Jugend bis zur Reife. Ange-setzt wurden jedesmal zwei Reihen mit verdächtigen und nicht verdächtigen Pflanzenteilen. Als verdächtig galten diejenigen mit verpilztem Saatkorn, als nicht verdächtig solche mit *Penicillium*-freiem Saatkorn. Die Halme wurden in etwa 2 cm große Stücke zerschnitten, in der Längsrichtung halbiert und in der Reihenfolge, die ihrem Ursprung entsprach,

auf Pflaumensaft-Agar in Petrischalen gelegt. Bei der Untersuchung älterer Pflanzen wurden besonders die Halmknoten berücksichtigt. Um die Möglichkeit von Trugschlüssen durch Entwicklung etwa an den äußeren Pflanzenteilen haftender Keime zu beseitigen, wurden die Objekte außen keimfrei gemacht. Dies geschah durch Entfernung der evtl. vorhandenen Blattscheiden, durch gründliche Abspülung mit Leitungswasser, kurzes Tauchen in Alkohol und darauffolgendes Abflammen.

Die Untersuchung jugendlicher Pflanzen ergab sehr hohe Prozente *Penicillium* aufweisender Teile, besonders starken Befall wiesen die basalen Teile auf. Auffallend häufig fanden sich die ersten Anzeichen an den Querschnittsfächen. An älteren Pflanzen wurde die Schimmelbildung seltener und hörte an reifen ganz auf.

Größere Beachtung verdienen die für die Halmknoten vorgefundenen Verhältnisse: Der stärkste Befall trat an den zweituntersten Knoten auf, wobei zu betonen ist, daß nur die grünen davon betroffen wurden, während aus bereits strohigen sich kein *Penicillium* entwickelte. Gerade diese Erscheinung spricht dafür, daß keine Verunreinigung von außen her erfolgte, sondern tatsächlich ein Herauswachsen aus dem Pflanzeninnern stattgefunden hatte.

Die Ergebnisse lassen also den Schluß zu, daß der Pilz imstande war, auf dem Wege einer Infektion des Scutellums bis mindestens in den zweituntersten Halmknoten der Weizenpflanze vorzudringen.

### VIII. Der Einfluß von Druschverletzungen des Saatgutes.

Nach Buchwald (3) ist an überfeucht lagerndem Getreide der Befall durch Schimmelpilze auf das Vorhandensein von Rissen, Sprüngen und Hohlräumen an den Getreidefrüchten zurückzuführen. Morgenthaler (21) findet unter denselben Verhältnissen das Gleiche. Er hebt die große Widerstandsfähigkeit völlig intakter Körner gegen Befall durch *Penicillium* hervor. Über das Verhalten ausgesäten Getreides, das uns ja vor allem interessiert, macht Hollrung (14) einige allgemeine Angaben, wonach die meist offene Mikropyle und die durch Drusch und Insektenfraß hervorgerufenen Verletzungen Anlaß zu Pilzbefall sind. Gentner (9) berichtet, daß, wenn die Samenschale infolge ungenügender Entwicklung oder nachträglich durch Verletzung nicht ganz intakt ist, die darauf haftenden Organismen imstande sind, in das Innere des Samens oder des Keimes zu dringen und diesen in seiner Entwicklung zu schädigen. Nach Laube (20) sind bei Roggen die im Zusammenhang mit großer Trockenheit zur Reifezeit stehenden, beim Ausdrusch vorkommenden Keimplingsbeschädigungen Anlaß zum Auftreten von „Pinselschimmel“. Koehler (18) nimmt an, daß das bei der Keimung von Maispflanzen aufbrechende Pericarp des Saatkernes ein Eindringen

verschiedener Pilze ermöglicht. Nach vorliegenden Angaben kommen also als Ursache des Befalles durch Pilze, u. a. durch *Penicillium* irgendwelche Verletzungen des Saatkornes in Betracht.

Bei der Behandlung des Fragenkomplexes lag es nahe, sich vor allem mit dem Ausdrusch zu beschäftigen. Das Zerbrechen von Saatgut bei starkem Drusch, die Entstehung des „Bruches“ ist eine bekannte Erscheinung. Weniger bekannt dürften die Verhältnisse hinsichtlich der mit bloßem Auge nicht mehr erkennbaren, ebenfalls vom Ausdrusch herührenden Verletzungen sein. Walldén (34) weist solche an Weizenproben durch Eintauchen der Körner in eine Eosinlösung und darauf folgendes Abwaschen nach, wobei durch Annahme des roten Farbstoffes winzige Verletzungen in Form von Fleckchen sichtbar wurden. Nach Angaben des Autors haben sie als Keimlingsverletzungen einen bedeutenden nachteiligen Einfluß sowohl bei der Beizung als auch bei der Lagerung.

### 1. Nachweis von Druschverletzungen.

Ein Quantum Weizen wurde ausgepfückt, ein anderes normal gedroschen und ein weiteres stark gedroschen. Im ersten Falle entstand kein Bruch, im zweiten 2,4 % und im dritten 24 %. Die Bruchkörner wurden sorgfältig entfernt und der Rest auf Verletzungen untersucht. Jede der Proben wurde drei Minuten in eine 4 %ige Lösung von Eosin w.-gelblich (Grübler & Co., Leipzig) getaucht, schnell mit Wasser abgespült und ebenso schnell zur Trocknung auf Fließpapier ausgebreitet. Die ausgepfückten Körner zeigten kaum nennenswerte, meist an der Kornansatzstelle sichtbar werdende Spuren roter Flecke, die normal ausgedroschenen wiesen sie allenthalben auf und in noch größerem Maße die stark gedroschenen. Das Ergebnis war bei zwei Jahrgängen (1933 und 1934), abgesehen von der leichten Anfärbung des gesamten Pericarps der Körner des Jahrganges 1933, das gleiche. Wesentlich ist die bei einem Vergleich mit der handausgepfückten Probe zur Geltung kommende Tatsache, daß ein Saatgut, das nach Maßgabe des relativ niedrigen Bruchbesatzes (2,4 %) als normal und in keiner Weise benachteiligt angesehen zu werden pflegt, bereits auffallend viele kleine Verletzungen aufweisen kann, welche ohne besondere Behandlung nicht ohne weiteres erkennbar sind.

Die Flecke traten auf, wo das Korn den mechanischen Einflüssen des Drusches am meisten ausgesetzt war, d. h. an den erhabenen Stellen, insbesondere an den kantigen Rändern der Embryodecke (namentlich auf der Rückenseite des Kornes), ferner auf der Embryodecke selbst, an der Kornansatzstelle und in der Bartgegend.

An jedem Eosinfleck konnten Verletzungen nachgewiesen werden. Die Ausdehnung desselben entsprach der Ausdehnung der jeweiligen Verletzung. Angefärbt wurden die Unterseite des gesprengten Pericarpes, das Endosperm, soweit es frei lag, und schließlich die verletzten Teile

des Embryos. (Als nicht angefärbt erwiesen sich die unverletzten Teile des Embryos, selbst dann, wenn sie durch das fehlende Pericarp entblößt waren.) Die Feststellung von Walldén (34), wonach jeder rote Fleck in unmittelbarem Zusammenhang mit einer Verletzung steht, konnte somit bestätigt werden.

Der Drusch äußerte sich im mikroskopischen Bilde in verschiedener Art: Zumeist war das Pericarp zerrissen. Die darunter liegenden Schichten erschienen mehr oder weniger zerquetscht. Der Mehlkörper war vor allem an der Rückenseite des Kornes betroffen, seltener in der Nähe der Kornansatzstelle. Mit dem Grade der Verletzung der Embryodecke ging oft eine Verletzung des Embryos, und zwar eine Quetschung der Wurzelhöckerchen einher. Sie äußerte sich durch glasiges Aussehen. Quetschungen erlitt vor allem die Spitze der mittleren Keimwurzelanlage.

Es galt nun festzustellen, ob die beschriebenen Verletzungen auch sonst in der landwirtschaftlichen Praxis an Saatgut vorkommen. Die Untersuchungen wurden an 60 Winterweizen-Saatgutproben verschiedener Sorte und Herkunft vorgenommen. Der Nachweis geschah in der oben beschriebenen Weise. Die Beurteilung des Färbungsgrades geschah auf dem Wege der Bonitierung. Zum Vergleich wurden Druschproben von Peragis-Sommerweizen verwandt. Es wurde nur der Umfang und die Zahl der Flecken in Betracht gezogen, nicht dagegen die bei manchen Proben beobachtete leichte Anfärbung der ganzen Fruchtschale. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Sie besagen, daß tatsächlich sämtliche Proben Verletzungen aufwiesen und daß der Verletzungsgrad in den weitaus meisten Fällen ein ganz erheblicher war.

Etwa die Hälfte der Proben zeigte den Verletzungsgrad der als „normal gedroschen“ bezeichneten Probe von Peragis-Sommerweizen und fast der gesamte übrige Teil den der „stark gedroschenen“, während keine der handausgepfückten glich, d. h. praktisch unverletzt war. Es wird also offenbar in der landwirtschaftlichen Praxis nicht genügend Wert auf sorgfältigen Drusch von Saatgut gelegt.

Tabelle 5.

**Untersuchung von Weizensaatgutproben auf mit bloßem Auge nicht mehr erkennbare Druschbeschädigungen.**

Saatgut verschiedener Herkunft und Sorte.

Feststellung durch Färbung mit einer 4%igen Eosinlösung.

Zahl der Proben: 60.

Umfang der Beschädigung	Anteil der Proben in %
Sehr gering . . . . .	0
Gering . . . . .	4
Mittelmäßig . . . . .	50
Stark . . . . .	40
Sehr stark . . . . .	6

## 2. Der Einfluß von Druschverletzungen auf den *Penicillium*-Befall.

Die folgenden Versuche dienen der Feststellung, ob ein Einfluß jener Druschverletzungen auf den *Penicillium*-Befall vorhanden ist und wie sich verschieden stark gedroschenes Saatgut hierzu verhält.

### a) Drillversuch.

Als Saatgut wurden zwei Proben benutzt, nämlich „normal gedroschen“ und „stark gedroschen“. Die Beseitigung des Bruches wurde praktisch auf maschinellem Wege erreicht. Da jede der beiden in einem Falle der natürlichen Infektion überlassen<sup>1)</sup>, im anderen mit einer Sporenaufschwemmung von *Penicillium species* benetzt wurde, ergaben sich insgesamt  $2 \times 2 = 4$  Serien. Sie wurden zur übersichtlicheren Erläuterung mit 1 a, 1 b, 2 a und 2 b numeriert (1 a: „normal gedroschen“ unbehandelt; 1 b: „normal gedroschen“ mit Sporen versehen; 2 a: „stark gedroschen“ unbehandelt; 2 b: „stark gedroschen“ mit Sporen versehen).

Die Verhältnisse des Saatenstandes sind aus den Abb. 5 und 6 ersichtlich. Abb. 5 zeigt die Serien 1 a und 1 b, Abb. 6 die Serien 2 a und 2 b. Ein Vergleich der beiden der natürlichen Infektion überlassenen Serien (Abb. 5 und 6 rechts) führt sehr deutlich die Wirkung des verschiedenen Drusches auf den Aufgang, noch mehr aber auf die Ausbildung der aufgegangenen Pflanzen vor Augen. Die schwächlichen Pflanzen waren, wie eine Untersuchung ergab, stets von *Penicillium* befallen. Ein Vergleich der beiden mit Sporen von *Penicillium species* versehenen Reihen bringt ähnliche Ergebnisse. Die Einwirkung des Pilzes tritt bei 1 b (Abb. 5 links) gegenüber 1 a (Abb. 5 rechts) klar hervor. In noch stärkerem Maße kommt sie bei 2 b (Abb. 6 links) gegenüber 2 a (Abb. 6 rechts) zum Ausdruck.

Aus den Befunden geht hervor, daß im Feldbestand eine ganz beachtliche Schädigung der Jungpflanzen durch *Penicillium* als Folge der unscheinbar kleinen Saatgutverletzungen möglich ist. Diese Tatsache trifft also nicht nur für das stark gedroschene, sondern auch schon für das als normal gedroschen bezeichnete Saatgut zu.

Nachstehende Tabelle 6 führt die Ernteergebnisse vor Augen. Die Erträge der Serie 1 a zeigen gegenüber 2 a keine Unterschiede. Die bei den Jungpflanzen beobachtete Auswirkung verschieden starken Drusches kam demnach hinsichtlich der natürlichen Infektion nicht mehr zum Ausdruck, so daß jener Faktor nur im jugendlichen Stadium der Weizenpflanze Bedeutung hatte. Diese Verschleierung konnte schon längere Zeit vor der Reife beobachtet werden.

Anders liegen jedoch die Verhältnisse bezüglich der Serien, deren Körner mit Sporenaufschwemmung von *Penicillium species* behandelt worden waren. Die nachhaltige Virulenz des Pilzes machte sich weit mehr in der

<sup>1)</sup> In diesem Falle erfolgte eine Benetzung mit Wasser.

Serie 2b als in 1b bemerkbar: Die Verminderung des Strohertrages von 1b gegenüber 1a betrug etwa 7%, die des Körnertrages etwa 5%: die Verminderung des Strohertrages der Serie 2a gegenüber 2b etwa 23%, die des Körnertrages etwa 20%.

Wenn daher zur Verbesserung des Saatgutes der Bruchbesatz durch einen Trieur, der ja nur die Bruchstücke erfaßt, auf ein Mindestmaß herabgedrückt wird, kann trotzdem eine Schädigung durch *Penicillium* eintreten, namentlich dann, wenn der Ausdrusch sehr heftig war.



Normal gedroschen mit Sporen versehen.

Normal gedroschen unbehandelt.

Abb. 5.



Stark gedroschen mit Sporen versehen.

Stark gedroschen unbehandelt.

Abb. 6.

Abb. 5 und 6. Einfluß verschieden starken Ausdrusches von Saatgut auf die Schädigung der Jungpflanzen durch *Penicillium*.

Saatgut normal gedroschen (2,4% Bruch) und stark gedroschen (24% Bruch). Vor der Aussaat Entfernung der Bruchkörner.

Saatgut mit Sporen von *Penicillium species* versehen bzw. keine Behandlung. Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Bildaufnahme: 7. Mai 1934.

Man beachte auch den Unterschied zwischen den nicht mit Sporen von *Penicillium species* versehenen Serien. — Natürlicher Befall.)

Tabelle 6.

**Feststellung des Einflusses verschieden starken Ausdrusches von Saatgut auf die Korn- und Stroherträge als Folge von *Penicillium*-Befall.**

Saatgut von Bruchkörnern befreit.

Feldversuch (gedrillt).

Saatgut mit Sporen von *Penicillium species* versehen bzw. unbehandelt.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Langparzellen (ein Teilstück = 16 qm. Vier Wiederholungen).

Aussaatstärke: 120 kg/ha.

Bodenart: Mittelschwerer, leicht abbindender, diluvialer sandiger Lehm.

Untergrund: Diluvialsand.

pH-Zahl: 6,8 (Wasserausschüttelung).

Niederschläge: Mai: 16,4, Juni: 29,3, Juli: 42,4, August: 56,4 mm.

Temperatur (Luft): Mai: 17° C, Juni: 21° C, Juli: 22,7° C, August: 21° C.

Aussaat: 29. März 1934.

Ernte: 31. Juli 1934.

Vorbehandlung des Saatgutes	Parzelle	Kornertrag					Strohertrag				
		kg/16 qm	% H <sub>2</sub> O am Erntetage	kg/16 qm 14 % Feuch- tigkeit	dz/ha	Relativzahl bezogen auf 1 a	± m m %	kg/16 qm	dz/ha	Relativzahl bezogen auf 1 a	
1 b Normal gedroschen mit Sporen versehen	a	4,50		4,33		88,91		7,70		88,50	
	b	4,10		3,95		91,22	± m = 2,51	7,20		94,12	
	c	4,80		4,62		94,87		8,20		88,17	
	d	5,30		5,10		96,96	m % = 2,64	8,60		90,52	
	e	4,90		4,72		103,06		9,20		101,65	
	Mittel	4,72	17,21	4,54	28,38	95,00		8,18	51,20	92,59	
1 a Normal gedroschen ohne Sporen	a	5,00		4,87		100		8,70		100	
	b	4,45		4,33		100		7,65		100	
	c	5,00		4,87		100		9,30		100	
	d	5,40		5,26		100		9,50		100	
	e	4,70		4,58		100		9,05		100	
2 b Stark gedroschen mit Sporen versehen	Mittel	4,91	16,27	4,78	29,90	100		8,84	55,31	100	
	a	3,90		3,77		77,41		6,20		71,26	
	b	3,80		3,67		84,75	± m = 1,47	6,30		82,35	
	c	4,00		3,87		79,47		6,70		72,04	
	d	4,30		4,16		79,09	m % = 1,82	6,75		71,05	
	e	3,90		3,77		82,31		8,20		91,71	
2 a Stark gedroschen ohne Sporen	Mittel	3,98	16,89	3,85	24,06	80,61		6,83	42,70	77,68	
	a	4,60		4,47		91,79		8,00		92,00	
	b	4,25		4,13		95,38	± m = 3,28	8,60		112,42	
	c	5,00		4,86		99,79		7,55		81,81	
	d	5,80		5,63		107,03	m % = 3,28	9,20		96,84	
	e	5,00		4,86		106,11		10,30		113,80	
		Mittel	4,93	16,47	4,79	29,94	100,02		8,73	54,56	99,37

### b) Zuchtgartenversuch.

Zur Aussaat gelangten ausgepfückte, normal gedroschene und stark gedroschene Körner. Da jede der drei in einem Falle mit einer Sporenaufschwemmung benetzt, im anderen der natürlichen Infektion überlassen wurde, umfaßte der Versuch  $2 \times 3 = 6$  Serien.

Eine am 19. April 1934 vorgenommene Bonitierung ergab, daß von den Pflanzen der nicht künstlich mit Sporen versehenen Serien die aus handgepfücktem Saatgut stammenden am besten und die aus stark gedroschenem am schlechtesten entwickelt waren; die aus normal gedroschenem Saatgut hervorgegangenen Exemplare unterschieden sich wenig von den zuerst genannten. Bei den mit Sporenaufschwemmung versehenen Reihen zeigten die aus ausgepfückten Weizenfrüchten hervorgegangenen Pflanzen keinerlei Besonderheiten, wohl aber die aus normal gedroschenen und noch mehr die aus stark gedroschenen Körnern hervorgegangenen. Die einzelnen Wiederholungen boten das gleiche Bild.

Am selben Tage wurde eine größere Anzahl Pflanzen jeder Serie ausgegraben, auf *Penicillium* untersucht und Höhe und Blattzahl festgestellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 enthalten.

Die Aufgangsziffern der nicht mit Sporen behandelten Versuchsreihen zeigen bei der Parzelle „stark gedroschen“ eine geringe Abnahme gegenüber „ausgepfückt“, während die Parzelle „normal gedroschen“ keine sichere Deutung zuläßt. Die Sporenaufschwemmung bewirkte, wie vorauszusehen war, bei ausgepfückten Körnern keine Unterschiede. Bei normal gedroschenem Saatgut waren geringe, bei stark gedroschenem beträchtliche Unterschiede festzustellen. Das aufschlußreichste Ergebnis brachte die Untersuchung der Pflanzen auf *Penicillium*. Ein wichtiger Befund war das Fehlen jeglichen Befalles in der Serie „ausgepfückt, unbehandelt“; die Saatkörper zeichneten sich in diesem Falle durch vollkommen einwandfreie Beschaffenheit des Pericarps aus, während das der anderen Serien fast immer irgendwelche Verfärbungen aufwies. Die Pflanzen der Parzelle „normal gedroschen, unbehandelt“ wiesen schon häufigen, die von Parzelle „stark gedroschen, unbehandelt“ sehr starken Befall auf. Die geschilderten Unterschiede zeigten sich in noch stärkerer Ausprägung, wenn die Körner mit Sporen behandelt waren.

Betrachtet man das Zahlenverhältnis zwischen den nicht aufgegangenen und den befallenen Pflanzen, so erkennt man, daß der Anteil der befallenen Pflanzen überwiegt (vergl. auch Tabelle 8). Diese Tatsache ist ein Fingerzeig dafür, daß man sich bei der Beurteilung des Pilzes nicht allein von den Aufgangsverhältnissen leiten lassen darf. Bei Betrachtung der Ergebnisse der Serie „stark gedroschen, mit Sporen versehen“ kommt das Gesagte besonders gut zum Ausdruck: 19 % aller Pflanzen waren nicht zum Auflaufen gekommen, während 97 % der in der gleichen Serie aufgelaufenen Pflanzen befallen waren.

Tabelle 7.

Feststellung des Einflusses verschieden starken Ausdrusches von Saatgut auf Befall und Schädigung der Jungpflanzen durch *Penicillium*.

Saatgut von Bruchkörnern befreit.

Freilandversuch (Zuchtgartenmäßige Aussaat. Parzellengröße  $0,60 \times 2,50$  m. Zahl der Wiederholungen: 4).

Saatgut mit Sporen von *Penicillium species* versehen bzw. unbehandelt.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Bodenart: Mittelschwer, leicht abbindender, diluvialer sandiger Lehm.

Untergrund: Diluvialsand.

pH-Zahl: 6,8 (in H<sub>2</sub>O-Ausschüttelung).

Niederschläge: März 21,6 mm, April 79,9 mm.

Temperatur: März 6,6° C, April 13° C.

Aussaat: 23. März 1934.

Auswertung: 19. April 1934.

Vorbehandlung des Saatgutes		Geerntete Pflanzen		Höhe der Pflanzen			Pflanzen mit 2 und mehr Blättern in Relativzahlen	
		Insgesamt	Nicht befallen	In Relativzahlen	$m +$ $m^{\circ}/\circ$	m (D)		
		in Relativzahlen						
Ausgepfückt	1 a Unbehandelt	100	100	100	$\pm 0,2627$ 2,07		100	
	1 b Mit Sporen versehen	99	100	102	$\pm 0,2426$ 1,91	$\pm 0,3564$	108	
Normal gedroschen	2 a Unbehandelt	99	83	93	$\pm 0,2030$ 1,72		94	
	2 b Mit Sporen versehen	95	51	91	$\pm 0,2035$ 1,77	$\pm 0,2874$	78	
Stark gedroschen	3 a Unbehandelt	93	79	92	$\pm 0,2114$ 1,87		86	
	3 b Mit Sporen versehen	81	3	78	$\pm 0,3592$ 3,59	$\pm 0,4168$	33	

Wie Tabelle 7 zeigt, wirkte sich der Befall auch in der Höhe der Pflanzen aus. Besonders auffällig ist die Beeinträchtigung, wie zu erwarten war, bei Parzelle „stark gedroschen, mit Sporen behandelt“. Das gleiche Bild war hinsichtlich der Blattzahl festzustellen.

### 3. Die Bedeutung der einzelnen Verletzungsarten.

Hinsichtlich der Frage, welche Art der Druschverletzung einen Befall und eine hiermit verbundene Beeinträchtigung der Weizenpflanze

im Gefolge hatte, erschien es angebracht, noch besondere Untersuchungen einzuleiten.

Es wurden an ausgepfückten, also vollkommen intakten Körnern serienweise jene Verletzungen künstlich erzeugt, die bereits an gedroschenem Saatgut beobachtet worden waren. Zur besseren Kontrolle wurden die Eingriffe unter einem Binocularmikroskop vorgenommen. Das Material wurde später mit einer Sporenaufschwemmung von *Penicillium species* benetzt. Je 60 bis 100 ausgepfückte Körner wurden auf folgende Weise verletzt:

1. Das Pericarp oberhalb der Wurzelanlage des Embryos vorsichtig abgetragen (60 Körner).
2. Die gesamte Embryodecke entfernt (60 Körner).
3. Die embryonalen Keimwurzeln fast bis zur Basis abgeschnitten.
4. Der Embryo mit tiefem Einschnitt versehen.
5. Die Keimwürzelchen mit Hilfe des Köpfchens einer in einen Holzgriff eingelassenen Stecknadel stark gequetscht.
6. Der Mehlkörper in der Nähe des Embryos in einer Ausdehnung von etwa 1 qmm durch Schleifen auf Sandpapier freigelegt. (Der Substanzverlust für jedes Korn betrug nach Berechnung zirka 0,50% des Gesamtgewichtes).
7. Das Korn unbehandelt gelassen.

Die so vorbehandelten Körner wurden in Glasschalen auf feuchten Ziegelgrus gelegt und bis zum 14. Tage auf Schimmelbildung und etwaige Besonderheiten in ihrer Entwicklung bei Zimmertemperatur beobachtet. In den ersten Tagen bot sich folgendes Bild:

Die Abtragung der Embryodecke führte zu keinerlei Wachstumsstörungen oder *Penicillium*-Befall. Die am Embryo durchgeföhrten Eingriffe brachten Keimungsanomalien zuwege: Das Abschneiden der embryonalen Keimwurzeln bewirkte ein späteres Erscheinen der Würzelchen, der Einschnitt und noch mehr die Quetschung hatten Mißbildungen aller Art, wie sie auch bei dem stark gedroschenen Material beobachtet werden konnten, zur Folge. Eine mikroskopische Untersuchung ergab, daß sich die zerquetschten Partien nicht entwickelt hatten, aus dem wachsenden Gewebe herausgedrängt worden waren und als unscheinbare Reste — meist an der Wurzelspitze — hafteten. Die Keimlinge blieben naturgemäß in ihrer Entwicklung zurück.

Die endospermbeschädigten Körner zeigten eine durchaus normale Keimung. An den Schadstellen konnten die ersten Anzeichen eines Pilzwachstums wahrgenommen werden.

Das in den ersten Tagen beobachtete Bild hatte sich bis zum 14. Tage stark geändert. Die Keimpflanzen der Versuchsreihen mit den Embryoerletzungen waren denjenigen mit Endospermbeschädigungen weit voraus. Pilzbefall war nicht vorhanden. Das freigelegte Endosperm (Serie 6) dagegen war in allen Fällen vollkommen mit *Penicillium* bedeckt, desgleichen die basalen Teile von Halm und Wurzel; die Pflanzen

machten einen stark geschwächten Eindruck. Eine Bestätigung hierfür liefern die in folgender Tabelle angeführten Trockengewichte.

Nr.	Embryodecke abgetragen und Keimwürzelchen stark gequetscht (kein Befall)	Mehlkörper angefeilt (Feilstelle etwa 1 qmm) (Befall)
	Trockengewicht der Keimpflanzen (in Gramm)	
1	0,72	0,52
2	0,79	0,52

Aus den Befunden geht hervor, daß der Befall der Weizenpflanze mit *Penicillium* von einer Verletzung des Endosperms abhängig war und daß selbst die bedenklichsten Verletzungen des Embryos nicht zu Befall führten.

Der von Walldén (34) festgestellte nachteilige Einfluß mikroskopisch kleiner Beschädigungen der Embryodecke bzw. des Embryos bei Beizung und Lagerung trifft also nicht für das Verhalten von *Penicillium* zu. Ebensowenig bezieht sich die von Hollrung (14) beobachtete besondere Empfindlichkeit des Keimwürzelchens auf die Angriffsfähigkeit dieses Pilzes.

Die Befunde liefern gleichzeitig eine Bestätigung für die Richtigkeit des bei der zuerst beschriebenen künstlichen Infektionsmethode eingeschlagenen Weges. Dort wurden nämlich die unmittelbar zu Keimungsstörungen führenden Embroyoverletzungen, wie sie beim Drusch vorkommen, vermieden, so daß ein klareres Bild von der Wirkung des Pilzes erhalten werden konnte.

#### 4. Untersuchung einer Anzahl Weizen- und Roggensaatgutproben auf ihre Anfälligkeit gegen *Penicillium*.

Um festzustellen, in welchem Umfange Saatgut in der landwirtschaftlichen Praxis Anfälligkeit gegen *Penicillium* aufweist, wurden 30 Weizen- und 27 Roggenproben verschiedener Herkunft und Sorte des Jahrgangs 1934 unbehandelt in Keimschalen zur Keimung ausgelegt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 enthalten. Die Befallsziffern der Weizenproben sind beachtenswert, selten war eine Probe gänzlich pilzfrei. Es ist ein durchschnittlicher Befall von ungefähr 5 bis 6% zu verzeichnen. Eine noch weit stärkere Anfälligkeit zeigte das Roggensaatgut mit ungefähr 13% Befall. Da es sich in allen Fällen um gleichen Jahrgang und sächsische Herkunft gehandelt hat, beide Getreidearten also annähernd gleichen Witterungsverhältnissen ausgesetzt gewesen sein dürften und außerdem die Schwankungen der Befallsziffern der verschiedenen Herkünfte beider Getreidearten als unbedeutend zu bezeichnen sind, ist mit

der Möglichkeit zu rechnen, daß Roggen ganz allgemein anfälliger gegen *Penicillium* ist als Weizen.

Tabelle 8.

**Untersuchung von bruchfreien Getreideproben auf die Anfälligkeit der Keimpflanzen gegen *Penicillium*. Proben verschiedener Herkunft und Sorte.**

Auswertung nach Pilzentwicklung am Saatkorn.

Getreidearten: Weizen und Roggen.

Zahl der Proben: 30 bzw. 27.

Gefäße: Keimschalen.

Kornzahl je Probe: 100.

Keimmedium: Sand. (Korngröße bis 2,5 mm.)

Wassergehalt des Keimmediums: ca. 50 % Sättigung der W.K.

Temperatur: +20 ° C.

Auswertung: 11–12 Tage nach der Aussaat.

Laufende Nummer der Proben	Weizen					Roggen				
	% Gesunde Keime	Von <i>Penicillium</i> befallene Keime %	Nicht gekeimte nicht von <i>Peni- cillium</i> betallene Körner		Von <i>Penicillium</i> befallene Keime %	Gesunde Keime %	Von <i>Penicillium</i> befallene Keime %	Nicht gekeimte nicht von <i>Peni- cillium</i> betallene Körner		Von <i>Penicillium</i> befallene Keime %
			%	%				%	%	
1	96	4	0	0	0	89	3	3	3	5
2	96	4	0	0	86	7	7	7	4	1
3	98	0	2	0	87	20	3	3	10	1
4	93	4	12	1	68	14	8	8	4	0
5	96	1	3	0	88	3	3	3	1	1
6	93	4	2	1	84	20	20	20	10	1
7	61	7	17	15	78	18	18	18	2	0
8	93	7	3	0	83	8	8	8	4	4
9	95	5	0	0	90	0	0	0	7	7
10	93	3	3	1	88	8	8	8	2	2
11	99	1	0	0	82	12	12	12	2	2
12	96	1	1	2	77	16	16	16	3	3
13	87	9	3	1	94	6	6	6	0	0
14	78	21	0	1	72	18	18	18	9	9
15	80	14	3	3	93	0	0	0	4	4
16	96	2	0	2	80	6	6	6	1	1
17	88	7	2	3	87	5	5	5	6	6
18	87	11	1	1	79	10	10	10	9	9
19	97	1	1	1	73	19	19	19	6	6
20	91	4	4	1	89	9	9	9	1	1
21	92	6	0	0	85	10	10	10	4	4
22	93	5	2	0	78	18	18	18	2	2
23	92	3	2	3	63	13	13	13	14	14
24	98	0	1	1	84	6	6	6	7	7
25	90	7	2	1	94	2	2	2	2	2
26	99	0	1	0	84	9	9	9	8	8
27	94	4	2	0	85	4	4	4	5	5
28	95	5	0	0	—	—	—	—	—	—
29	86	6	6	2	—	—	—	—	—	—
30	98	0	2	0	—	—	—	—	—	—
M.:	91,60	4,90	2,20	1,30	82,96	9,20	3,20	4,30		

Beachtenswert ist auch, daß der prozentuale Anteil verpilzter Keime fast durchweg denjenigen verpilzter Körner überwiegt. (Vergleiche auch Kapitel VIII, S. 174 unten.)

Daß als Ursache des Befalles tatsächlich vor allem Druschverletzungen in Frage kamen, dürfte nach den an früherer Stelle gemachten Ausführungen ohne Zweifel sein. Diese Gefahrenquelle möglichst weitgehend auszuschalten, scheint aus volkswirtschaftlichen Gründen gerade heute dringend geboten.

Der Grad des Befalles der einzelnen Proben war dem früher festgestellten Verletzungsgrade nicht proportional; es kam sogar vor, daß Material mit geringen Verletzungen besonders starken Befall aufwies. Man könnte daher vermuten, daß die Empfänglichkeit, wie sie bekanntlich durch Druschverletzungen gegeben ist, durch andere Faktoren beeinträchtigt worden ist, z. B. durch Witterungseinflüsse während der Ernte, feuchte Einlagerung in der Scheune u. a. m. Da die Möglichkeit des Befalles mit *Penicillium* immer gegeben ist, muß als vorbeugende Maßnahme gegen Schädigungen dieses Pilzes gefordert werden, daß das Saatgut von Roggen und Weizen nicht beim Dreschen verletzt wird. Scharfes Dreschen muß vermieden werden, wenn es sich um Erlangung von Saatgut handelt.

Wieweit für Gerste und Hafer ähnliche Verhältnisse gelten, ist nicht bekannt.

## IX. Bekämpfung.

Ein Vorgehen gegen *Penicillium* wird am besten auf dem Wege der Vorbeugung möglich sein. Die in Frage kommenden Maßnahmen ergeben sich aus den bereits gemachten Ausführungen. Trotzdem sind Untersuchungen über die Wirkung von Saatgutbeizen nötig; Vorbeugungsmaßnahmen werden ganz vordringlich zu ergreifen sein, wenn sich herausstellen sollte, daß durch die heute sehr oft und grundsätzlich — besonders bei Weizensaatgut — durchgeführten Beizungen mit zum Teil vielseitig wirkenden Präparaten keine Bekämpfung jener Schädlinge erfolgt.

Die zahlreichen Angaben über Giftwirkungen auf *Penicillium* beziehen sich vor allem auf Untersuchungen an dem Pilze selbst ohne Berücksichtigung der Wirtspflanze. Saatgut-Beizversuche sind selten angestellt worden. Daß das Vorgehen gegen *Penicillium* auf dem Wege der Beizung auf Schwierigkeiten stoßen dürfte, konnte schon aus der Tatsache geschlossen werden, daß sich die Gattung *Penicillium* als äußerst widerstandsfähig gegenüber den verschiedensten Giften gezeigt hat. Die Schwierigkeit wird noch vergrößert durch die bekannte Empfindlichkeit verletzten Saatgutes gegen hohe Giftkonzentration; ich erinnere nur an die Wirkung des Kupfervitriols. Clark (4) hebt die hohe Widerstandsfähigkeit von *Penicillium glaucum* gegen Essigsäure hervor; Formaldehyd, ein sehr starkes Pilzgift, tötet nach seinen Befunden diesen Pilz und *Aspergillus flavus* erst in einer Konzentration von 1 Mol in 562 Litern, *Aspergillus niger* und *Botrytis species* schon in Lösung von 1 Mol in 2048 Litern. Sublimat wirkt gegen *Penicillium* weit weniger als gegen *Botrytis*; dieses soll 16 mal so viel davon vertragen können. Mehrfach wird von der

enormen Widerstandsfähigkeit von *Penicillium* gegen Kupfersulfat-Lösung, u. a. von Traboult (33) berichtet. *Penicillium* wurde danach nicht nur nicht abgetötet, sondern vermochte sogar in einer konzentrierten Lösung zu wachsen. Durch Zufall konnte das gleiche Verhalten der von mir benutzten Species beobachtet werden, als beabsichtigt wurde, befallene Pflanzen durch Einbringen in das gleiche Medium zu konservieren. — Lakanon empfiehlt als wirksames Beizmittel gegen verschiedene Schimmelpilze an Weizen-saatgut eine Sublimat-Lösung (Verdünnung 1:1000, 1½ stündige Einwirkung und darauf folgendes Auslaugen).

Die praktische Auswirkung einer Beizung gegen *Penicillium* hängt sowohl vom Wirkungsgrad des Präparates auf die zur Zeit der Beizung am Korn haftenden Keime als auch vom Einfluß der nach der Beizung sich einfindenden Keime ab. Mit letzter Möglichkeit ist gerade bei *Penicillium* stets zu rechnen. Es soll diesem Umstand in den folgenden Versuchsanstellungen Rechnung getragen werden.

#### a) Versuch unter Vermeidung der Nachinfektion.

Als Maßstab für die Wirkung der Beize wurde der Grad des Auftretens von *Penicillium*-Rasen am Saatkorn herangezogen.

Das zur Erlangung einer künstlichen Infektion in der früher beschriebenen Weise vorbehandelte Saatgut wurde in sterilisierten, mit abgeflammten Korkstopfen versehenen Erlenmeyern gebeizt, in sterilisierte Fließpapierbriefe gebracht (vgl. Kap. IV), darin zurückgetrocknet und kurz vor dem Gebrauch entnommen. Als Keimbett gelangte Ziegelgrus zur

Tabelle 9.

#### Prüfung der Wirksamkeit von Beizmitteln gegen Befall der Weizenpflanzen durch *Penicillium*. Vermeidung von Boden- und Luftinfektion.

(Nach den Beizvorschriften des Merkblattes Nr. VII des Deutschen Pflanzenschutzdienstes).

Gewächshausversuch.

Saatgut künstlich mit *Penicillium species* infiziert.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Gefäße: Emailleschalen.

Kornzahl je Serie: 150.

Keimmedium: Ziegelgrus. (Korngröße zirka 2—6 mm.)

Wassergehalt des Keimmediums: 100% Sättigung der W. K.

Temperatur: 18—20° C.

Auswertung: 12 Tage nach dem Auslegen.

Beizmittel	Befallene Pflanzen %
1. Germisan (Kurznaßbeizverfahren) . . . . .	56
2. Uspulun-Universal (Tauchverfahren) . . . . .	63
3. Ceresan (Tauchverfahren) . . . . .	98
4. Ceresan (Kurznaßbeizverfahren) . . . . .	98
5. Tutan (Trockenbeizverfahren) . . . . .	100
6. Germisan (Tauchbeizverfahren) . . . . .	100
7. Formaldehyd . . . . .	100
8. Ceresan (Trockenbeizverfahren) . . . . .	100
9. Nicht gebeizt . . . . .	100

Verwendung, der sich für vorliegende Zwecke leicht handhaben ließ und ein bequemes Arbeiten ermöglichte. Als Gefäße dienten Emailleschalen. Diese wurden 3 cm hoch mit Grus gefüllt, die Oberfläche desselben geglättet, das Ganze mit einer überstehenden Glasplatte bedeckt und durch Erhitzen auf 160° C sterilisiert. Die Körner (je Gefäß etwa 150) gelangten aus den Briefen unmittelbar auf den Grus, wurden auf ihm möglichst schnell und gleichmäßig mit einer sterilisierten Platinnadel verteilt und schließlich mit einer 3 cm hohen Grusschicht bedeckt. Auch dieser Ziegelgrus war keimfrei gemacht worden. Das zugegebene Wasser wurde am Gefäßrand vorsichtig eingeleitet. Es verteilte sich gleichmäßig im Keimmedium. Je Gefäß wurden 250 ccm sterilisiertes Wasser zugeführt. Tabelle 9 bringt die zahlenmäßigen Ergebnisse.

Wie die Zusammenstellung zeigt, haben nur vier Beizmittel gewirkt, nämlich Germisan (Kurznaßbeizverfahren), Uspulun - Universal (Tauchverfahren), Ceresan (Tauchverfahren) und Ceresan (Kurznaßbeizverfahren). Die Wirkung der beiden letztgenannten ist allerdings praktisch völlig unzureichend.

#### b) Versuch ohne Vermeidung der Nachinfektion.

Als Saatgut gelangte verletztes, mit einer Sporenaufschwemmung versehenes gebeiztes Material zur Verwendung; zum Vergleich verletztes, infiziertes, nicht gebeiztes sowie unverletztes unbehandeltes. Die Anzucht geschah in Holzkästen, welche eine Grundfläche von 62 × 43 cm und eine Tiefe von 8 cm hatten. Als Keimmedium diente gründlich gewaschener Bau-sand (Korngröße ca. 2 mm). Die Körner wurden auf die Oberfläche des glattgestrichenen Sandes gelegt und 3 cm hoch mit Sand gleicher Beschaffenheit überschichtet. Der Wassergehalt des Keimmediums betrug rund 60% Sättigung der Kapazität. Das verdunstete Wasser wurde täglich ergänzt. Am Tage der Auswertung hatten die Pflanzen eine durchschnittliche Höhe von 17 cm erreicht und das zweite Blatt gebildet. Die Ergebnisse der Prüfung sind in Tabelle 10 enthalten. Die zur Anwendung gelangten Beizmittel vermochten keine Besserung des Aufgangs der Pflanzen herbeizuführen. Eine Erhöhung des Trockengewichtes gegenüber „nicht gebeizt“, also eine Verringerung des Befallsgrades, war nur bei vier der benutzten Beizmittel mit einiger Deutlichkeit festzustellen, nämlich bei Ceresan (Tauchbeize), Germisan (Kurzbeize), Ceresan (Kurzbeize) und schließlich noch bei Uspulun-Universal. Praktisch ist jedoch der Wirkungsgrad aller genannten Beizen, besonders der letztgenannten, nicht befriedigend.

Wie die Untersuchung ergab, hatten umfangreiche Nachinfektionen stattgefunden, z. B. bei der relativ gut wirkenden Germisan-Kurznaßbeize, was daraus zu schließen ist, daß höhere Befallsprozente als bei der Versuchsanstellung a) zu verzeichnen waren. — Welchen zahlenmäßigen Anteil die Nachinfektion einerseits und das teilweise Versagen des

Tabelle 10.

**Prüfung der Wirksamkeit von Beizmitteln gegen Befall durch *Penicillium* bei Weizenkeimpflanzen. Ohne Vermeidung von Boden- und Luftinfektion.**

(Nach den Vorschriften des Merkblattes Nr. VII des Deutschen Pflanzenschutzdienstes.)  
Kastenversuch.

Saatgut künstlich mit *Penicillium species* infiziert bzw. unbehandelt.

Sorte: Peragis-Sommerweizen.

Kornzahl je Serie: 400.

Keimmedium: Sand. (Korngröße bis 2,5 mm.)

Wassergehalt des Keimmediums: zirka 50% Sättigung der W. K.

Temperatur: (durchschnittlich) 23° C.

Aussaat: 6. Juli 1934.

Auswertung: 17 Tage nach der Aussaat.

Vorbehandlung des Saatgutes		Aufgelaufene Pflanzen	Trockengewicht der aufgelaufenen Pflanzen
		in Relativzahlen	
Nicht künstlich infiziert	Nicht gebeizt . . . . .	100	100
Künstlich infiziert	Nicht gebeizt . . . . .	84	68
	Ceresan (Tauchbeizverfahren) . .	83	80
	Germisan (Kurznaßbeizverfahren) .	84	78
	Ceresan (Kurznaßbeizverfahren) . .	84	74
	Uspulun-Universal . . . . .	82	71
	Germisan (Tauchbeizverfahren) . .	84	69
	Formaldehyd . . . . .	79	68
	Ceresan (Trockenbeizverfahren) . .	81	67
	Tutan (Trockenbeizverfahren) . .	80	64

betreffenden Beizmittels andererseits an der Differenz im Trockengewicht hatten, konnte natürlich auf diesem Wege nicht festgestellt werden. — Bei der Beurteilung der fungiziden Wirkung eines Beizmittels gegen *Penicillium* muß jedenfalls der Faktor Nachinfektion in Rechnung gesetzt werden.

Rückblickend kann festgestellt werden, daß diejenigen Beizmittel, die unter den sehr abweichenden Bedingungen der ersten und zweiten Versuchsanstellung als einzige mehr oder weniger erkennbare Beizwirkungen zeigten, die gleichen waren, eine Tatsache, die den vorliegenden Prüfungen zweifellos eine größere Sicherheit verleiht. — Ihre Rangordnung ist allerdings in beiden Fällen nicht die gleiche. Am zuverlässigsten verhielt sich von ihnen Germisan als Kurznaßbeize; als Tauchbeize versagte es übrigens merkwürdigerweise vollkommen. Die drei anderen waren Ceresan als Tauchbeize, Uspulun-Universal und Ceresan als Kurznaßbeize. — Nur mit einigen der insgesamt benutzten Beizmittel konnte ein Erfolg erzielt werden, der aber praktisch in keinem Falle befriedigend war, teils wegen der mehr oder weniger geringen Wirkung der Präparate, teils wegen der nach der Beizung an das Saatgut gelangten Keime.

## X. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die ersten Symptome eines Befalles der Weizenpflanze mit *Penicillium* zeigten sich am Saatkorn. Am 3. bis 4. Tage nach der Aussaat entwickelten sich bei etwa 20° C und unter normalen Feuchtigkeitsverhältnissen besonders häufig an den Randpartien der Embryodecke zunächst hellblaugrüne, dann dunkler und graugrün werdende filzige Pilzmassen. Die basalen Teile des Keimlings wurden von diesen umwuchert. Eine Veränderung der Weizenpflanze unter dem Einfluß des Pilzes machte sich erst etliche Tage nach dem Auftreten der beschriebenen Symptome bemerkbar. Sie bestand in einer verschiedenartigen Formen annehmenden Schwächung. Die Entwicklung der Weizenpflanze kam teilweise schon in frühen Stadien zum Stillstand; die Pflanzen gingen noch vor dem Aufgang ein. In den meisten Fällen erreichten jedoch die Keimlinge die Oberfläche. Etliche der aufgegangenen Pflanzen starben während der Vegetationsperiode ab, und zwar oft erst vor dem Schossen, die meisten jedoch brachten es in mehr oder weniger geschwächtem Zustande zur Reife. Kranke Keimpflanzen fielen durch Chlorose auf. Das Absterben äußerte sich in einer Vergilbung und Vertrocknung. Die zur Fruchtbildung gelangten befallenen Exemplare reiften später als die nicht befallenen.
2. Etiolierte gesunde Keimpflanzen der Sorte Peragis, die unter bestimmten Bedingungen intensiver Sonnenbestrahlung ausgesetzt worden waren, bildeten in den Koleoptilen einen deutlich erkennbaren purpurnen Farbstoff, während etiolierte, *Penicillium*-befallene Pflanzen unter den gleichen Bedingungen dazu nicht imstande waren.
3. Von Weizen wurden sechs verschiedene grüne *Penicillium*-Formen isoliert. Die für künstliche Infektion verwandte Form ist näher beschrieben worden.
4. Zur Erzielung hochgradigen Befalles wurde eine leicht durchführbare Infektionsmethode ausgearbeitet.
5. Voraussetzung für den Befall waren Dreschbeschädigungen. Es genügten schon winzige Risse und Sprünge. Die Untersuchung ergab ihr Vorhandensein an sämtlichen vorliegenden Proben. Unbeschädigte Weizenfrüchte schalteten einen Befall vollkommen aus. Eine Ansteckung gesunder Körner bzw. Pflanzen durch verschimmelte, in unmittelbarer Nähe liegende Körner war auch unter optimalen Bedingungen nicht möglich, ebenso wirkungslos blieben Injektionen von Konidienaufschwemmung in keimende intakte Körner, ferner Vorbehandlung gesunder Weizenfrüchte durch Benetzung mit Pflaumenpreßsaft und Sporen-

aufschwemmung und schließlich künstliche Verseuchung des Bodens mit Konidien. Natürlicher Befall trat schon bei Verwendung von normal gedroschenem, bruchfreiem Material ein. Bei stärkerem Ausdrusch war der Verletzungsgrad und somit die Empfänglichkeit größer. Diese Abhängigkeit von der Druschkstärke kam in gesteigertem Maße bei Behandlung der Körner mit *Penicillium*-Sporen zum Ausdruck. So erfuhren die Korn- und Stroherträge bei Verwendung von „normal gedroschenem“ Saatgut eine Verminderung von 5% bzw. 7%, bei Verwendung von „stark gedroschenem“ Material sogar eine solche von 20% bzw. 23%.

6. Anfälligkeit von Weizen und Roggen im Keimbett war eine ganz allgemein auftretende Erscheinung. Eine Untersuchung von Saatgutproben verschiedener Herkunft und Sorte des Jahrganges 1934 ergab für Weizen einen durchschnittlichen Befall von mehr als 6% und für Roggen von über 13%. Roggen erwies sich als bedeutend anfälliger als Weizen.
7. Durch den Einfluß niedriger Temperaturen wurde der Umfang der schädigenden Wirkung von *Penicillium* erheblich vergrößert. Das Trockengewicht befallener Keimpflanzen gegenüber dem gesunder war z. B. bei +4° C um zirka 23% niedriger als bei +20° C.
8. Geringe Keimbettfeuchtigkeit war Ursache gesteigerter Aufgangsverluste. So wurde z. B. bei 50% Sättigung der W. K. ein Verlust von 17%, bei 25% ein Verlust von 38% und bei 5% sogar ein solcher von 92% nach späterer Erhöhung jenes Wassergehaltes auf das normale Maß nachgewiesen.
9. Die Ausbreitung von *Penicillium* geschah in folgender Weise: Die Hyphen drangen zwischen Frucht- und Samenschale vor und durchwucherten die Aleuronschicht. Meist gelangten sie von hier vereinzelt in das Endosperm, bedeckten das Zylinderepithel des Scutellums und drangen schließlich in breiter Front in diesen Gewebekomplex ein. In den Wirtszellen bildeten sie knäuelartige, dichte Verschlingungen. Bei älteren Pflanzen wuchsen die Pilzhyphen in die parenchymatischen Zellen des Scutellums und schließlich auch in die Gewebe zwischen Halm und Wurzel. — Ein Angriff auf die äußeren Teile des Halmes gelang nie, wohl aber auf die der Wurzelscheide.
10. Acht Beizmittel bzw. -Methoden wurden auf ihre Wirksamkeit gegen einen Befall der Weizenpflanze durch *Penicillium* nach den Vorschriften des Merkblattes Nr. 7 des Deutschen Pflanzenschutzdienstes geprüft, nämlich Germisan (Tauchbeize), Germisan (Kurznaßbeize), Ceresan (Kurznaßbeize), Ceresan (Tauchbeize), Uspulun-

Universal, Ceresan (Trockenbeize), Tutan und Formaldehyd. Von ihnen waren nur in sehr beschränktem Umfange wirksam Ceresan als Tauchbeize, Germisan als Kurznaßbeize, Ceresan als Kurznaßbeize und Uspulun-Universal.

---

An dieser Stelle möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Zade für die Anregung zu dieser Arbeit sowie den Herren Prof. Dr. Rudorf, Prof. Dr. Arland und Privatdozent Dr. Glathe für die weitere wohlwollende Unterstützung und das meinen Arbeiten stets entgegengebrachte Interesse nochmals meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

---

### Literaturverzeichnis.

- 1 Biourge, Ph.: Les Moisissurs du groupe *Penicillium* Link. Verlag Löwen 1923.
- 2 Brefeld, O.: Entwicklungsgeschichte von *Penicillium*. In: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Band 2, 1874.
- 3 Buchwald, M.: Überfeuchtes Getreide (Mitteilungen aus der Versuchsanstalt für Getreideverarbeitung). Zeitschrift für das gesamte Getreidewesen, Heft 4 bis 5, Jahrgang 8. Berlin, S. 60—65.
- 4 Clark, K.: On the Toxic Effect of Deleterious Agents on the Germination and Development of Certain Filamentous Fungi. Bot. Gazette 6, Jahrgang 1899, pp. 383—388.
- 5 Dorn, O.: Beiträge zur Kenntnis der Durchbohrung pflanzlicher Membranen durch Pilzhypfen. Dissertation. Leipzig 1914.
- 6 Fischer & Gäumann: Biologie der pflanzenbewohnenden Pilze. Jena 1929.
- 7 Gassner & Straib: Über die Anthocyanbildung junger Getreidepflanzen und ihre Verwertbarkeit als Sortenmerkmal. Wissenschaftliches Archiv für Landwirtschaft, Band 4, Heft 2, 1930, S. 169—195.
- 8 Gäumann, E.: Vergleichende Morphologie der Pilze, Jena 1926.
- 9 Gentner, G.: Das Saatgut als Träger von Krankheitskeimen. Jahresbericht der Vereinigung für angewandte Botanik, I, 12, 1914, S. 28—43.
- 10 Harz, K. O.: Landwirtschaftliche Samenkunde, Band 15, 2. Berlin 1885.
- 11 Hilbrig, K.: In Lafar, F.: Handbuch der technischen Mykologie, Band 1, 1904/1907.
- 12 Hiltner, L.: Arbeiten an der biologischen Abteilung des kaiserlichen Gesundheitsamtes. Band 3, S. 1, Heft 1. 1902, S. 1 ff.
- 13 Hiltner, L.: Über den Einfluß der Ernährung und der Witterung auf das Auftreten von pilzlichen und tierischen Pflanzenschädlingen. Jahrbuch der deutschen landwirtschaftlichen Gesellschaft. Lieferung I, 1912, S. 156—169.
- 14 Hollrung, M.: Die krankhaften Zustände des Saatgutes. Kühn-Archiv, Band 8, 1919, S. 1—193.
- 15 Höstermann & Noack: Lehrbuch der pilzparasitären Pflanzenkrankheiten. Berlin 1923.
- 16 Johann, H.: *Penicillium* Injury to Corn Seedlings. Phytopathology Vol. 18, 1928, pp. 238—241.
- 17 Johann, H.: Further studies on *Penicillium* injury to corn. Phytopathology 19, 1929, pp. 105 ff.

- 18 Koehler, B.: Scutellum Rot Disease of Corn. *Phytopathology* Vol. 17, Nr. 7, 1927.
- 19 Lakon, G.: Über einen bemerkenswerten Fall von Beeinflussung der Keimung von Getreide durch Pilzbefall. *Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft*, Heft 14, 1916, S. 421—430.
- 20 Laubé, Dr.: Saatgut, die Grundlage unserer Ernten. *Mitteilungen für die Landwirtschaft*, Stück 34, 49. Jahrgang 1934, S. 737—738.
- 21 Morgenhaler, O.: Über die Mikroflora des normalen und muffigen Getreides. *Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz*, Jahrgang 32, 1918, S. 549 ff.
- 22 Muth, F.: Über die Infektion von Sämereien im Keimbett. *Jahresbericht der Vereinigung für angewandte Botanik*. 5. Jahrgang 1907, S. 51 ff.
- 23 Nobécourt, P.: Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. Referiert in *Journ. Agr. Res.* 27, pp. 451—489.
- 24 Nobécourt, P.: The mechanism of parasitic action by *Penicillium glaucum* and *Mucor stolonifer*. *Compt. Rend. Acad. Sci.* Nr. 26, 1922, pp. 1720—1722.
- 25 Porter, C. L.: A study of the fungus flora of the nodal tissues of the corn plant. *Phytopathology* Nr. 17, 1927, pp. 563—568.
- 26 Potter, M. C.: *Journal of the Agricultural Science*. Heft 3, Nr. 1, 1908, S. 102—107.
- 27 Schellenberg, H.: Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemicellulosen. *Flora*, 98. 1908, S. 257—308.
- 28 Scherpe, R.: Die chemischen Veränderungen des Roggens und Weizens beim Schimmeln und Auswachsen. *Arbeiten des kaiserlichen Gesundheitsamtes*, Heft 15, S. 387 ff.
- 29 Schneider-Orelli: Versuche über Wachstumsbedingungen und Verbreitung der Fäulnispilze des Lagerobstes. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*. 2. Abteilung, Band 32, S. 161—169.
- 30 Sorauer P.: Untersuchungen über die Ringelkrankheit usw. *Dissertation Berlin und Leipzig* 1878.
- 31 Stöll, O.: Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten. *Dissertation Stuttgart* 1905.
- 32 Thom, Ch.: *The Penicillia*, London 1930.
- 33 Trabout: Sur un *Penicillium* végétant dans des solutions concentrées de sulfate de Cuivre. *Bull. Soc. botanique de France*. T. 44, 1895.
- 34 Wallén, J. N.: Tröskskada a hvete och rag samt dess inflytande på kändligheten för potning och lagring. *Sveriges Utsädesf. Tidskr.* XXVI. p. 24—47, 1916.
- 35 Walter, H.: Der Wasserhaushalt der Pflanze. *Zeitschrift für Naturwissenschaft und Landwirtschaft*. Heft 6, 1925, S. 7—81.
- 36 Ward, O.: Zitiert in: Just's *botanischer Jahresbericht*. 1898, S. 186.
- 37 Wehmer, C.: Über Variabilität und Speziesbestimmung bei *Penicillium*. *Mykologisches Zentralblatt* 2, 1913, S. 195—203.
- 38 Wehmer, C.: In: Lafar, F., *Handbuch der technischen Mykologie*. Band 4. Jena 1905—1907.
- 39 Westling, R.: Über die grünen Species der Gattung *Penicillium*. *Arkiv för Botanik*. Band 11, Nr. 1, 1912, S. 39 ff.
- 40 Winter, H.: In: Rabenhorst, *Kryptogamenflora* 1. Band, 8. Abteilung, 1907.

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
der Universität Halle.

(Direktor: Prof. Dr. Roemer.)

Untersuchungen über Sexualität  
bei *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint.  
im Rahmen der Immunitätszüchtung.

Von

Theodor Becker.

Mit 8 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht: Einleitung. — I. Bisherige Ergebnisse unter Beschränkung auf Rasse- und Sexualitätsproblem. — II. Gewinnung und Verhalten monosporidialer Linien auf künstlichem Nährboden: Sporenkeimung und Sporidienbildung; Isolierung und Anzucht monosporidialer Linien; Wuchsverhalten haploider Linien auf künstlichen Nährböden. — III. Sexualitätsverhältnisse bei *Tilletia tritici*: Methodik der Myzelinfektion; Infektionsergebnisse und ihre Auswertung für die Sexualitätsverhältnisse. — IV. Vererbung von Aggressivität und Wuchsverhalten monosporidialer Linien von *Tilletia tritici*. —

Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung.

Die bisher am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle durchgeführten Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens *Tilletia tritici* schufen wichtige Grundlagen für die Immunitätszüchtung gegenüber dieser Krankheit. Brauchbare Infektionsmethoden wurden geschaffen (31), Sortimente geprüft, der Erbgang der Sortenresistenz in verschiedenen Kreuzungen festgestellt (13, 23), schließlich durch Auslese auf verschiedenen Wirtssorten das Vorhandensein von Linien verschiedener Aggressivität beim Parasiten nachgewiesen (29, 31). Insbesondere die letztere Arbeit bildete einen sehr klaren Beweis für die Tatsache der physiologischen Spezialisierung bei *Tilletia tritici*, wodurch sie eine Bestätigung früherer eigener sowie amerikanischer Befunde bringt.

Ein weiteres Problem, das neben seiner theoretischen Bedeutung vor allem auch ein außerordentlich starkes Interesse für den praktischen Züchter besitzt, ist die Neubildung physiologischer Rassen, die ihrerseits wieder in enger Beziehung zu den Sexualitätsverhältnissen

---

Anmerkung: Erscheint zugleich als Dissertation des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle.

steht. Die vorliegende Studie setzte sich das Ziel, einen Beitrag zur Lösung dieser wichtigen Frage zu liefern.

### I. Bisherige Ergebnisse unter Beschränkung auf Rasse- und Sexualitätsproblem.

Bei der Darstellung des Rasseproblems ist der Begriff „physiologische Rasse“ in dem von Stakman aufgestellten und näher erläuterten Sinne gebraucht. Zur Bestimmung von physiologischen Rassen pflanzenpathogener Pilze gibt Stakman vier verschiedene Wege an:

1. Wuchsverhalten auf künstlichen Nährböden,
2. Physikalisch-chemische Reaktionen,
3. Pathogenität auf bestimmten Wirtssorten und
4. in geringerem Grade bisweilen feine morphologische Differenzierungen der Sporen.

Dazu tritt Smith (37) für *Tilletia tritici* mit einer weiteren Unterscheidungsmöglichkeit physiologischer Rassen durch die Verbildung der Ähre befallener Pflanzen. Er infizierte die Weizensorte Martin mit drei Rassen von *Tilletia tritici*. Rasse 1 rief keinen, Rasse 2 und 3 jedoch vollen Befall hervor. Bei Rasse 2 war im Gegensatz zu Rasse 3 die Ähre sehr stark verlängert und trotz genügenden Platzes nur mit ganz kleinen Brandbutten besetzt (0,5 bis 3,5 mm in der Länge zu 4,5 bis 6,5 bei Rasse 3).

Unterschiede in der Aggressivität stellte zuerst 1924 Reed (8) fest, als er beobachtete, daß ein und dieselbe Weizensorte in verschiedenen Gegenden der USA. verschieden hohen Steinbrandbefall aufwies. 1927 fanden Rodenhiser und Stakman (33) physiologische Rassen bei *Tilletia levis* und *tritici*. In Deutschland ist Roemer (29) das Verdienst der Auffindung von Herkünften verschiedener Aggressivität zuzuschreiben, der mit Gaines (11) einen Austausch von *Tilletia*-Herkünften und Weizensorten vornahm. Im Jahre 1926 wurde ein Testsortiment von deutschen und amerikanischen Sorten sowohl in Halle als auch in Pullman (Washington) mit Steinbrand aus beiden Orten infiziert. Hierbei wurde festgestellt, daß Herkunft Halle sowohl in Halle als auch in Pullman aggressiver war als Herkunft Pullman. Eine Ausnahme bildeten die deutschen Sorten, die, an und für sich sehr widerstandsfähig, in Pullman hoch befallen wurden, nachdem sie mit amerikanischen Herkünften infiziert wurden. Roemer (29) prüfte deutsche und ausländische Herkünfte und fand die nach Aggressivität geordnete Reihenfolge: Cösel, Breslau und Halle als die aggressivsten, dann Lyngby (Dänemark), Zürich (Schweiz) und Pullman (USA.) als die schwächsten Herkünfte. Hierbei vermied Roemer ausdrücklich, von „Rassen“ zu sprechen, da nur ein Gemisch, eine Population vorlag. Einen weiteren Fortschritt brachte die Arbeit Roemer-Bartholly (31), die die Veränderung der Aggressivität verschiedener Steinbrandherkünfte

durch die Wirtssorte nachwies. Aus ihren Ergebnissen ist weiterhin der Schluß zu ziehen, daß ein großer Teil von Unstimmigkeiten bei gleichen Versuchen an verschiedenen Orten zweifellos auf das Fehlen einer sicheren standardisierten Infektionsmethode und auf der mangelnden Kenntnis über die Bedeutung der gleichen Vermehrungssorte für die verschiedenen Herkünfte (Populationen) beruhen. (Siehe auch Reichert, 28, Feucht, 8).

Von außerordentlicher Bedeutung ist aber weiterhin die Frage der Neubildung physiologischer Rassen, die naturgemäß ein starkes Unsicherheitsmoment in die Arbeiten des Pflanzenzüchters hineinträgt. Diese Neubildung wird sich vorwiegend auf zwei verschiedenen Wegen vollziehen. Einmal auf dem Wege der Neukombination durch den mit Kernzusammentritt verbundenen Geschlechtsakt (Rodenhiser [32]), das andere Mal auf dem Wege der Mutation (Stakman und Christensen [38]). In Deutschland vertritt auch Roemer die Ansicht, daß durch Neukombinationen neue physiologische Rassen entstehen können, die eventuell eine bis dahin als widerstandsfähig bekannte Wirtssorte befallen. Er sieht die einzige Möglichkeit zur Behebung dieser Schwierigkeiten in der planmäßigen künstlichen Schaffung von Neukombinationen des Pilzes, mit denen das Zuchtmaterial durchzuprüfen ist. Er schreibt wörtlich: „Wir hoffen, durch den Kernzusammentritt zweier extremer Biotypen eine kontinuierliche Aufspaltungsreihe zu erhalten, in dieser, wenn auch nicht alle, aber doch einen wirklich großen Anteil der möglicherweise auftretenden Biotypen des Pilzes zu erzeugen und uns dadurch vor Überraschungen zu schützen“ (30, S. 173).

Um diese künstliche Erzeugung von Kernzusammenritten haploider Linien durchzuführen und auf diesem Wege auch bei *Tilletia* Neukombinationen zu erhalten, ist es notwendig, sich zuvor mit dem Sexualitätsproblem dieses Pilzes näher zu befassen. In diesem Sinne ist die vorliegende Studie eine Fortsetzung der bisherigen Hallenser Arbeiten über *Tilletia*-Resistenz.

Auf den grundlegenden Arbeiten von Kniep (22) über die Sexualität der niederen Pflanzen aufbauend, ist für eine größere Anzahl von Brandpilzen bereits eingehend über die Sexualitätsverhältnisse gearbeitet worden, weniger allerdings bei *Tilletia tritici*. Abgesehen von Paravicini (25), Rawitscher (27), Boss (3), deren meist zytologisch ausgerichtete Untersuchungen in ihren Ergebnissen zum Teil noch sehr auseinandergehen, hat als einziger der Amerikaner Flor (9) versucht, mit Hilfe des Infektionsexperimentes einige Klarheit in die sexuellen Verhältnisse beim Steinbrand zu bringen. Es konnte daher die weitere und eingehendere Behandlung des Sexualitätsproblems als eine notwendige Aufgabe betrachtet werden. Hierzu war es erforderlich, sich zunächst mit allen Einzelheiten der mykologischen Technik vertraut zu machen, um haploide Linien

des Pilzes zu erhalten. Auf dieses Ziel richten sich die im folgenden zu besprechenden Versuche.

## II. Gewinnung und Verhalten monosporidialer Linien auf künstlichem Nährboden.

### Sporenkeimung und Sporidienbildung.

Die eigenen Untersuchungen über Keimung und Sporidienbildung bei *Tilletia tritici* wurden nur an Material vorgenommen, das im Hinblick auf die spätere Isolierungsmöglichkeit auf festen Nährböden angesetzt worden war. *Tilletia*-Sporen regelmäßig und zu allen Jahreszeiten zum Keimen zu bringen, ist bis auf vereinzelte anderslautende Angaben (Gaßner, briefliche Mitteilung) bisher noch nicht möglich gewesen, ein Verhalten, das ihnen die Bezeichnung „launische Keimung“ eingetragen hat. Die Ursachen hierfür können nicht immer klar erkannt werden. Sie mögen einmal im Material selbst liegen, zum anderen aber ebenso häufig in den die Keimung beeinflussenden Umweltbedingungen, wie Temperatur, Sauerstoffzufuhr, Licht usw.

Über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung von *Tilletia*-Sporen finden wir Angaben bei Kienholz und Heald (21), die ebenfalls ein festes Nährmedium (verschiedene Agar-Nährböden) verwandten. Sie stellten ein Temperatur-Optimum von 18° bis 20° C fest, erreichten aber auch bei 10° bzw. 25° C noch gute Resultate. Ihre Ergebnisse werden durch die eigenen Befunde bestätigt. Bei 20° C keimten die Sporen am schnellsten und gleichmäßigsten. Bei 25° C war die Keimung auch noch befriedigend. Bei Temperaturen um 27° C jedoch war einmal die Keimung der Sporen nur noch sehr unregelmäßig, andere lösten sich bei dieser Temperatur auf oder die nur kurzen Keimschläuche verdickten sich am oberen Ende und platzten.

Die günstige Wirkung des Lichtes auf die Keimung, wie sie von Hahne (14), Rabien (26), Zillig (40) u. a. übereinstimmend festgestellt wurde, fand gleichfalls durch eigene Beobachtung ihre Bestätigung.

Daß die Sauerstoffzufuhr für die Sporenkeimung von besonderer Wichtigkeit ist, wurde bereits von Hahne (14) und Rabien (26) dargelegt. Die sogenannte „launische“ Keimung, insbesondere auf Agar-Nährböden, steht meines Erachtens sehr eng mit der Sauerstoffzufuhr in Zusammenhang. Es kam häufig vor, daß verschiedene Proben von Sporenmaterial, aus ein und derselben Brandbutte stammend, ganz verschiedene Keimprozente ergaben. Im Laufe der drei Jahre (1932 bis 1934), in denen die Untersuchungen durchgeführt wurden, konnten diese Beobachtungen immer wieder gemacht werden.

Es ist naturgemäß aus diesen gelegentlichen Beobachtungen heraus sehr schwer zu entscheiden, in wieweit die einzelnen Umweltfaktoren als Reizstoffe für Beginn und Ablauf des Keimungsprozesses anzusprechen sind.

Hollrung (14) z. B. ist der Ansicht, daß der Lichteinfluß sich durch die erhöhte Atmungstätigkeit auswirkt.

Eine stimulierende Wirkung einzelner Umweltfaktoren, wie vor allem Sauerstoffzufuhr und Temperatur bzw. Temperaturwechsel, ist auch aus weiteren eigenen Beobachtungen über die Sporidienbildung zu ersehen. Eine gute Keimung verbürgt noch nicht ohne weiteres eine gute, gleichmäßige Sporidienbildung; die gleichen Umweltfaktoren können für diese beiden verschiedenen Prozesse eine ganz verschiedene Wirkung ausüben.

Parallel zu den Verhältnissen bei der Keimung besteht auch bei der Sporidienbildung offenbar eine starke Abhängigkeit von der Sauerstoffzufuhr. Es konnte die Beobachtung gemacht werden, daß sich nur dann ein Kranzkörper bildet, wenn die Spitze des Keimschlauches nicht von einer Flüssigkeit oder von Agar bedeckt war; im anderen Falle konnte es vorkommen, daß Keimschlüche unendlich lang wurden, ohne zur Kranzkörperbildung zu schreiten. Ferner ragten bei Kranzkörperbildung die Sporidien immer in die Luft.

Von weit größerer Bedeutung aber ist für die Sporidienbildung der Einfluß der Temperatur. Erst durch langwierige, mühevolle Untersuchung und Prüfung großer Versuchsserien mit verschiedenen Variationen ist es möglich geworden, die für den Sporidienbildungsprozeß günstigsten Bedingungen zu erkennen. Es konnte einwandfrei nachgewiesen werden, daß ein Temperaturwechsel nach der Keimung (bei etwa 20° C) auf etwa 10 bis 15° C erforderlich war, um eine gute Sporidienbildung zu gewährleisten. Für die praktische Durchführung der Arbeiten wirkte sich das so aus, daß das Sporenmaterial zunächst im Arbeitsraum bei einer Temperatur von 20° bis 22° C zum Keimen gebracht und dann nach Bildung der Keimschlüche (nach etwa vier bis fünf Tagen) in den kühlen Keller- raum überführt wurde, der ziemlich konstant eine Temperatur von 10° bis 15° auch über längere Zeiträume hielt. Die Sporidienbildung trat dann sehr rasch ein, so daß am folgenden Tage die Sporidien bereits abgenommen werden konnten. Wurden die Sporen weiter bei 20° C gelassen, so wuchs das Promyzel sehr lang aus, verästelte sich und bildete nur selten Sporidien.

Der Einfluß des Lichtes scheint in diesem Fall nur von untergeordneter Bedeutung zu sein, da Versuche in dieser Richtung nur geringe, innerhalb der Fehlergrenzen liegende Unterschiede erbrachten.

Betreffs der Anzahl der Sporidien stellten Rawitscher (27), Sartoris (34) u. a. fest, daß im Durchschnitt acht Sporidien je Spore gebildet werden. Nach Sartoris soll die Anzahl von 1 bis 16, bei Flor (9) von 8 bis 24 Sporidien je Spore schwanken. Bei eigenen Beobachtungen konnten im Höchstfall bis 34 gezählt werden.

Zusammenfassend muß betont werden, daß die Versuche und Beobachtungen zur Keimung und Sporidienbildung weniger auf die Klärung

der ursächlichen Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Umweltfaktoren und diesen Prozessen abgestellt waren, sondern daß sie unter dem praktischen Gesichtspunkt erfolgten, möglichst schnell und sicher Sporidien zu erhalten. Es ist deshalb darauf verzichtet worden, sie in Tabellenform niederzulegen. Es darf gesagt werden, daß dieses angestrebte Ziel durch die besprochenen Versuche voll erreicht wurde. Als wesentliche Ergebnisse dieses Abschnitts unserer Untersuchungen sind zu nennen:

1. Eine gute Sporenkeimung ist keineswegs identisch mit guter Sporidienbildung.
2. Ist bei der Sporenkeimung der Lichteinfluß von besonderer Wichtigkeit, so muß man bei der Sporidienbildung jedoch der Temperatur eine größere Bedeutung zuschreiben.
3. Durch einen Temperaturwechsel nach der Keimung von 20°C auf 10 bis 15°C ist es gelungen, schnell und sicher die Keimschlüche zur Kranzkörperbildung zu bewegen.

#### Isolierung und Anzucht monosporidialer Linien.

Nachdem es nunmehr möglich war, durch geeignete Temperaturbehandlung sich das für die weiteren Versuche notwendige Sporidienmaterial zu schaffen, bestand die nächste Aufgabe darin, die Technik der Isolierung und Anzucht monosporidialer Linien von *Tilletia tritici* einer eingehenden Bearbeitung zu unterziehen.

Kienholz und Heald (21) benutzten für die Sporidien-Isolierung die Trockennadel-Methode nach Hanna (15). Da bei der Einzelsporen-Isolierung die Keimung ungenügend war und nur 2% des Sporenmaterials Sporidien bildeten, isolierten sie mehrere Sporen zusammen und bekamen dadurch höhere Keimprozente. Diese Erscheinung, die auch bei anderen Pilzen beobachtet wurde, läßt vermuten, daß durch Zusammensein mehrerer Sporen gewisse Reizwirkungen ausgelöst werden, welche die Keimung begünstigen. Die eigenen Isolierungen sowohl der Sporen als auch der Sporidien wurden mit dem Isolierapparat von Hanna (15) durchgeführt. Flor (9) hielt diesen Apparat für ungeeignet, da die Einzelsporen zu schlecht keimten. Er ließ daher Sporen in Massenkulturen im Wasser keimen und Sporidien ausbilden, die er dann zur weiteren Isolierung auf Petrischalen ausgoß. Er bekam dadurch natürlich eine größere Sicherheit für die Gewinnung von Ausgangsmaterial, begab sich aber gleichzeitig jeglicher Möglichkeit, die Sporidien von einer Einzelspore zu erhalten. Ich selbst habe den Apparat von Hanna sehr schätzen gelernt; er ist nicht teuer in der Herstellung und gut zu handhaben. Sowohl zur Isolierung von Haferflugbrand-Sporidien als auch bei Sporen und Sporidien von *Tilletia* hat er mir wertvolle Dienste geleistet.

In der ersten Zeit der Untersuchungen — Sommer 1932 — wurden Einzelsporen isoliert. Da die Sporen später schlechter keimten, wurden Massen-Isolierungen in der folgenden Weise durchgeführt: Es wurde ein Deckgläschen mit etwas Sporenstaub versehen, der möglichst der Mitte einer geöffneten Brandbutte entnommen wurde. Diese wurde vorher nicht gebeizt, im Gegensatz zu Flor (9), Bodine und Durrell (2) u. a., die diese Maßnahme für nötig hielten, um Fremdinfectionen zu vermeiden. Bei den eigenen Versuchen trat nie oder nur sehr selten Fremdinfection auf. Von diesen Deckgläschen wurden die Sporen einzeln und später zu mehreren abgenommen und auf ein anderes Deckgläschen übertragen, auf dem sich ein Agartropfen befand. In Anlehnung an die Untersuchungen von Kienholz und Heald (21) wurde folgender Nährboden genommen, der sich als besonders geeignet für kräftiges Myzelwachstum erwies: 4%iger Kartoffelsucroseagar, d. h. 390 g Kartoffeln wurden mit Schale in 1 Liter Wasser gekocht, der Abguß auf 1 Liter wieder aufgefüllt und unter Zusatz von 40 g Kandis und 15 bis 20 g Agar nochmals gekocht. Da in der folgenden Zeit öfters ein Platzen des Promyzels beobachtet wurde, wurden noch weitere Nährböden ausprobiert, einmal reiner Agar mit 0,3%igem Salzzusatz, weiterhin Bodenextraktagar. Da jedoch der erstgenannte Nährboden für das weitere Myzelwachstum der geeignete war und die oben genannten Schädigungen nur zeitweise auftraten, wurden die weiteren Untersuchungen in erster Linie mit diesem Boden durchgeführt; sowohl Kienholz und Heald als auch Bodine und Durrell nahmen einen bestimmten Nährboden für die Keimung und einen anderen für die Anzucht des Myzels.

Die isolierten Sporen wurden dann der vorher erwähnten Methode zur Anregung der Sporidienbildung unterworfen. Hatte sich ein Kranzkörper — ab und zu sind es auch zwei — an dem Keimschlauch gebildet, was mitunter schon nach Ablauf von 24 Stunden eintrat, so war es notwendig, den richtigen Zeitpunkt für die Abnahme der Sporidien zu erfassen. Wurde er zu früh gewählt, so saßen die Sporidien noch zu fest; der ganze Kranzkörper, der vorher Sporidien an der freien Luft gebildet hatte, heftete sich an die Nadel des Isolier-Apparates. Durch das Abstreifen der Sporen mit den Sporidien auf den Nährboden durch die Nadel litten die Sporidien sehr und gingen ein. Gegen Berührung, sind sie äußerst empfindlich; das Plasma zieht sich leicht zusammen und das Sporidium stirbt ab. Geht man zu spät an die Isolierung, so sind die meisten Sporidien schon paarweise durch den Kopulationsschlauch verbunden. Häufig kommt es auch vor, daß drei Sporidien durch zwei Brücken kopulieren, seltener zwei Sporidien durch zwei Brücken. Wird der Zeitpunkt der Isolierung richtig gewählt, läßt sich der Kranzkörper ohne weiteres abnehmen, und die Sporidien können auseinander gezogen werden. Aus allen diesen Gründen sind die kleinen Haferflugbrand-Sporidien

leichter zu isolieren als die weitaus größeren *Tilletia*-Sporidien. Vor dem Auseinanderziehen der Sporidien ist es ratsam, eine stärkere Vergrößerung zu nehmen, um genau festzustellen, ob die Sporidien auch einzeln liegen. Flor (9), der als erster mit monosporidialen Linien von *Tilletia* arbeitete, benutzte wegen all dieser Schwierigkeiten eine andere Methode. Er zog die Sporidien, die bei ihm aus Massenkulturen stammten, auf einer Petrischale unter dem Objektiv von 16 mm auseinander oder brachte eine Suspension von Sporidien zur Isolierung auf eine Agar-Petrischale; wegen ihrer Empfindlichkeit berührte er nur den leeren Teil des Myzels.

Die vereinzelten Sporidien wurden auf andere Deckgläschen, und zwar jede für sich auf ein Deckglas übertragen. Bei späteren Isolierungen wurden, wenn das Sporidienwachstum weniger günstig war, die vereinzelten Sporidien auf ein und demselben Deckgläschen verteilt und in mehreren Reihen nebeneinander gelegt, um sie genau unter Kontrolle zu halten. Jedes weiterwachsende Sporidium wurde dann mit der Glasnadel vom Agar abgezogen und auf ein Deckgläschen für sich gebracht. Die Sporidien verblieben dann auf den Deckgläschen, bis sich ein sichtbares Myzel gebildet hatte, was bei einer Zimmertemperatur von etwa 20° C im Durchschnitt 12 Tage dauerte. Doch kamen je nach der Wuchsintensität der Herkünfte Schwankungen von ein bis drei Wochen vor. *Tilletia levis* zeichnete sich durch besonders langsamem Wuchs aus. Kienholz und Heald (21) gaben zwei Wochen an, Sartoris (34) zwei bis drei Wochen, Flor (9) zehn Tage bis zur Bildung einer sichtbaren Kultur. Es sei eingeschaltet, daß bei *Ustilago avenae* die Zeit bis zur Abnahme der monosporidialen Kultur nur drei Tage beträgt. In diesem Zustand konnten sehr viel Sekundär-Sporidien beobachtet werden, also an monokaryotischem Myzel, was bisher noch nicht bekannt war. Nach dieser Zeit wurden die Sporidien bzw. Sporidien-Kulturen in Reagenzgläser überimpft. Für das weitere Myzelwachstum wurde — wie schon vorher erwähnt — der gleiche Nährboden benutzt wie für die Keimung. Kienholz und Heald schlugen für die Myzelkultur noch zwei andere Nährböden vor: 1. Haferflockennährböden und 2. Nährböden aus Weizenkeimlingen. Sartoris empfiehlt als besten Nährboden Hafermehlagar, weiterhin Malzagar oder Dextrose mit Kalziumnitrat. Alle diese und mehr Nährböden wurden geprüft, doch wurde ein besseres Wachstum nicht erzielt. Es ist viel wichtiger, unter Zugrundelegung eines nicht zu saueren nährstoffreichen Agars die richtige Temperatur (15 bis 20° C) (siehe auch Kienholz und Heald) und besonders die richtigen Feuchtigkeitsverhältnisse zu finden. Im Durchschnitt dauerte es dann etwa zwei bis drei Wochen, bis von der Kultur im Reagenzglase Übertragungen in Erlenmeyerkolben vorgenommen werden konnten, um die für die Infektionsversuche notwendigen größeren Myzelmengen zu erhalten.

**Übersicht über die Verminderung der Anzahl der monosporidialen Linien von *Tilletia tritici* während der Zeit von der Isolierung bis zur Kultur im Reagenzglas.**

Herkunft und Spore	Isolierung der Sporidien			Übertragung im Reagenzglas			Isolierung der Sporidien			Übertragung im Reagenzglas		
	nach Tagen	Zahl der gebildeten Sporidien	Zahl der übertragenen Sporidien	nach Tagen	Zahl	nach Tagen	Herkunft und Spore	nach Tagen	Zahl der gebildeten Sporidien	nach Tagen	Zahl	
1	10	12	10	12	8	—	1	—	—	—	—	—
2	14	—	11	10	6	2	2	3	8	?	—	—
3	—	—	—	—	—	—	1	4	8	?	16	1
4	4	18	18	14	9	1	—	—	?	?	10	5
5	4	9	9	14	3	—	—	—	?	?	—	—
6	6	15	12	12	3	2	—	—	—	—	—	—
7	6	14	12	8	—	7	8	6	?	?	9	10
8	5	13	9	11	1	—	—	—	?	?	9	4
9	5	16	15	11	4	1	9	6	?	?	9	2
10	5	14	9	11	1	—	10	6	?	?	—	—
11	5	6	6	6	—	—	11	6	?	?	—	—
12	5	7	4	—	—	—	12	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—	13	—	—	—	—	—
14	4	7	5	12	2	—	14	7	?	?	8	4
15	—	—	—	—	—	—	15	7	?	?	8	—
16	4	4	4	12	—	1	16	4	16	16	16	1
17	6	12	12	10	5	8	17	7	7	26	24	4
18	6	16	14	10	3	—	18	7	11	11	13	—
19	6	12	12	14	—	—	19	5	15	14	16	3
20	6	8	8	14	2	—	20	6	22	10	15	5
21	—	—	—	—	—	—	21	6	21	16	17	6
22	7	4	4	13	—	2	22	5	10	15	6	5
23	4	10	10	12	5	—	23	—	—	—	—	—
24	4	13	11	12	6	—	24	—	—	—	—	—
Durchschnitt)	5	11,2	9,9	12,0	3,5	0,8	—	—	—	—	—	—
							6,4	17,3	14,0	12,4	7,0	2,7

<sup>1)</sup> Bei der Bildung des Durchschnitts der Sporennachkommenchaften der Herkunft T 23 sind nur die Sporidien der Sporen 16–22 berücksichtigt worden, da für die übrigen Sporen einige Angaben fehlen.

Tabelle 2a.

## Herkunft und Bezeichnung der in den Jahren 1932 bis 1934

Herkunft	Breslau	Lyngby	Cosel	Cosel	Breslau	Lyngby	Zürich	Pullman
Vermehrungs-jahr und Sorte	1928-1931 auf Panzer	1928-1931 auf Panzer	1928-1931 auf Panzer	1928-1932 auf Hohen-heim 77	1928-1933 auf Heils-Dickkopf	1928-1933 auf Panzer	1928-1933 auf Panzer	1928-1933 auf Panzer
Zeitpunkt der Isolierung	Sommer 1932	Sommer 1932	Sommer 1932	Frühjahr 1933	Herbst 1933	Frühjahr 1934	Frühjahr 1934	Frühjahr 1934
Nummer der Herkunft	T 8	T 23	T 3	T 20	T 15	T 42	T 41	T 45
	1-6	8-2	1-1	1-8	1-1	2-2	2-1	1-1
	2-1	8-10	1-4	1-10	1-2	3-2	5-1	2-2
	2-5	9-1	2-1	3-1	1-3	4-1	6-1	2-3
	4-2	9-2	4-1	8-2	2-2	4-2	6-3	2-4
	7-4	14-4	—	—	6-1	4-3	—	2-5
	7-5	14-6	—	—	6-2	4-4	—	2-7
	9-2	14-7	—	—	6-7	8-1	—	—
	13-3	14-8	—	—	6-8	8-3	—	—
	14-1	16-4	—	—	14-1	8-4	—	—
	14-2	17-5	—	—	14-2	8-7	—	—
	17-1	17-6	—	—	18-1	8-8	—	—
	17-3	17-11	—	—	18-2	8-9	—	—
	17-4	17-14	—	—	23-1	8-10	—	—
	18-2	19-4	—	—	—	8-12	—	—
	18-3	19-5	—	—	—	8-13	—	—
	23-1	19-7	—	—	—	8-14	—	—
	23-2	21-3	—	—	—	—	—	—
	—	21-4	—	—	—	—	—	—
	—	21-5	—	—	—	—	—	—
	—	21-6	—	—	—	—	—	—
	—	21-8	—	—	—	—	—	—
	—	21-10	—	—	—	—	—	—
	—	22-1	—	—	—	—	—	—
	—	22-2	—	—	—	—	—	—
	—	22-3	—	—	—	—	—	—
	—	22-5	—	—	—	—	—	—
	—	22-6	—	—	—	—	—	—

Um einen Überblick über den Erfolg an verbleibenden monosporidialen Linien von Beginn der Isolation bis zur Kultur im Reagenzglase zu erhalten, sei auf Tabelle 1 verwiesen, die das im Jahre 1932 isolierte Material enthält.

Die Zeit der Isolierung lief vom 7. April bis 14. Juni 1932. Die Temperaturen im Arbeitsraum lagen im Durchschnitt bei 20° C., im Keller bei 12° C. T 8 ist die Bezeichnung der Herkunft Breslau, T 23 die Herkunft Lyngby (Dänemark); T 8 ist sehr aggressiv, T 23 schwach aggressiv (31). Die Sporen von T 8 und T 23 keimten nach 3 bis 4 Tagen. Von T 8 konnten die Sporidien im Durchschnitt nach 5 Tagen isoliert werden, von T 23 nach 6,4 Tagen. Von den 11,2 im Durchschnitt gebildeten Sporidien bei T 8 wurden 9,9 abgenommen, das sind 88%, bei T 23 von

erhaltenen Sporidien von *Tilletia tritici* und *Tilletia levis*.

T 8 17-3 × T 23 22-1			T 23 22-5 × 22-6	TS 76 19-2 × 19-6	TS 76 19-7 × 19-9		<i>Tilletia levis</i> von Jena		
1933 auf Peragis			1934 auf Peragis	1934 auf Peragis	1934 auf Peragis		1934 auf ?		
Frühjahr 1934			Herbst 1934	Herbst 1934	Herbst 1934		Herbst 1934		
TS 76	TS 76	TS 76	TS 76	T 255	T 349	T 364		T. l.	
1- 1	5- 3	17- 4	19-11	1-1	1- 1	1- 2	6-3	2-1	21-1
1- 6	5- 4	17- 5	19-12	1-2	1- 2	1- 3	7-1	2-2	22-1
1- 8	5- 5	17- 6	19-13	2-1	1- 3	1- 4	7-4	3-1	22-3
1- 9	5- 6	17- 7	21- 2	2-2	1- 4	3- 1	8-1	3-2	23-1
1-10	5- 7	17- 9	21- 5	3-1	1- 5	3- 2	8-2	3-3	23-2
1-13	5- 8	17-10	22- 1	3-4	1- 6	3- 4	8-4	3-5	24-1
1-14	5- 9	18- 1	22- 2	4-2	1- 7	3- 5	8-6	4-1	25-1
1-17	5-10	18- 2	22- 4	5-2	1- 8	3- 7	8-7	4-2	—
1-18	6- 1	18- 3	22- 5	6-1	1-10	3- 8	8-8	4-4	—
1-19	6- 2	18- 4	22- 6	6-2	1-11	4- 1	9-1	5-1	—
2- 1	10- 1	18- 6	22- 7	6-3	2- 1	4- 2	—	5-2	—
2- 2	11- 1	18- 7	22- 9	6-4	2- 2	4- 3	—	10-1	—
2- 3	11- 3	18- 8	22-11	7-1	2- 3	4- 4	—	10-2	—
2- 4	12- 1	18-10	22-12	7-2	2- 7	4- 5	—	11-1	—
2- 5	13- 1	18-11	22-13	7-3	2- 8	4- 6	—	12-1	—
2- 6	13- 2	18-12	23- 2	7-4	3- 1	4- 7	—	14-1	—
2- 7	13- 3	18-13	23- 3	7-5	3- 2	4- 8	—	14-1a	—
3- 1	13- 4	19- 1	—	7-6	3- 3	4- 9	—	15-4	—
3- 2	13- 7	19- 2	—	7-7	3- 4	4-10	—	15-6	—
4- 2	14- 1	19- 4	—	7-8	3- 6	4-11	—	15-7	—
4- 5	16- 1	19- 5	—	7-9	—	4-12	—	16-2	—
4- 6	16- 2	19- 6	—	—	—	4-13	—	17-1	—
4- 7	16- 3	19- 7	—	—	—	5- 1	—	18-1	—
4- 8	16- 4	19- 8	—	—	—	5- 2	—	18-2	—
5- 1	17- 1	19- 9	—	—	—	6- 1	—	19-1	—
5- 2	17- 2	19-10	—	—	—	6- 2	—	19-2	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

17,3 im Durchschnitt 14, das sind 81%!. Von den Deckgläschen konnten in Reagenzgläser übertragen werden nach 12 Tagen von T 8 nur 35%, von T 23 nur 50%. Von diesen 35 bzw. 50% wuchsen an im Reagenzglas 23,2 bzw. 38,8%. Das sind von der Gesamtzahl an isolierten Sporidien 8,1 bzw. 19,4%. In Anbetracht der späteren Isolierung ist das ein sehr günstiges Ergebnis. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß von den isolierten Sporen eine große Zahl nicht keimten und von den keimenden nur wenige Kranzkörper bildeten. Noch schlechter waren die Ergebnisse bei *Tilletia levis*, nicht in der Keimung und Sporidienbildung, wohl aber hinsichtlich des Weiterwachsens der Sporidien und des Myzels im Reagenzglas. Ob hier ein anderer Nährboden besser gewesen wäre, konnte nicht

mehr erprobt werden. Bei Kienholz und Heald wuchs auf gleichem Nährboden *levis* besser als *tritici*.

Eine Kreuzung zwischen T 8 und T 23 brachte in Bezug auf Gewinnung von Sporidien sehr gute Ergebnisse. Wenn im Anfang sechs Sporidien je Spore die Höchstzahl war, so waren es hier zwölf. Auch die darauf folgende Generation blieb so wuchsfreudig, daß sogar 13 Sporidien je Spore isoliert wurden. Übersicht 2a gibt eine Zusammenstellung des vorhandenen Materials.

Das Jahr 1933 brachte, wie die Tabelle zeigt, die schlechtesten Ergebnisse. Das meiste Material wurde im Jahr 1934 gewonnen, da sich die Isolierung über einen längeren Zeitraum erstreckte, die vorher erwähnte verbesserte Isolierungsmethode benutzt wurde und da besonders das Kreuzungsmaterial ein stärkeres Sporidienwachstum zeigte. Das Kreuzungsmaterial läßt auch eine deutlich höhere Anzahl isolierter Sporidien je Spore erkennen als die Isolierungen der früheren Jahre. Aber auch bei T 42 konnten schon 10 Sporidien von einer Spore isoliert werden. Am Schluß der Übersicht befindet sich noch die Aufstellung der Sporidien von *Tilletia levis*. Es gingen von dieser Brandart viele Kulturen nach der Übertragung in die Reagenzgläser ein oder wuchsen nur sehr langsam weiter.

Die nachstehende Tabelle 2b bringt noch einmal einen Auszug der Tabelle 2a, und zwar gibt sie Auskunft einmal über die Zahl der je Herkunft isolierten Sporidien, sodann, für die einzelnen Herkünfte getrennt, die Durchschnittszahlen der je Spore erhaltenen Sporidien.

Tabelle 2b.  
Zahl der je Herkunft bzw. je Einzelspore  
gewonnenen Monosporidialkulturen von *Tilletia tritici* (1932—1934).

Jahr	Herkunft	Zahl der je Herkunft isolierten Sporidien	Durchschnittszahl der Sporidien je Spore
1932	T 8	17	1,7
	T 23	27	1,3
	T 3	4	2,0
1933	T 20	4	2,0
	T 15	13	2,2
1934	T 42	16	4,0
	T 41	4	1,3
	T 45	6	3,0
	TS 76	95	5,3
	T 255	21	3,0
	T 349	20	6,7
	T 364	36	4,5
	T. l.	33	1,8
		Summe 296	

Die Durchschnittszahlen waren am höchsten bei T 349, TS 76, T 364 und T 42. Das Jahr 1934 war also bezüglich der Durchschnittszahl der je Spore isolierten Sporidien am günstigsten. 1932 hat in dieser Hinsicht die schlechtesten Ergebnisse zu verzeichnen. Die Gründe hierfür mögen in erster Linie in der Verbesserung der Technik zu suchen sein. Es kann allerdings auch das Material selbst dafür verantwortlich gemacht werden. Der augenblickliche Bestand an monosporidialen Linien von *Tilletia* beläuft sich auf 296.

Trotz der auftretenden Schwierigkeiten ist es zum ersten Mal gelungen, zu monosporidialen Linien von *Tilletia* zu kommen, die von einer Spore stammen. Es konnte weiterhin die Isolermethode verbessert werden, so daß es möglich wurde, die Zahl der isolierten und weiterwachsenden Sporidien je Spore von 6 auf 12 zu erhöhen. Die Höchstzahl betrug 1932 5 bis 6, 1934 12 bis 13 Sporidien je Spore. Erst die Ausarbeitung dieser Methodik schuf die Möglichkeit, an die Klärung der Sexualitätsverhältnisse innerhalb einzelner Sporennachkommenchaften heranzutreten.

#### Wuchsverhalten haploider Linien auf künstlichen Nährböden.

Wie bereits auf Seite 188 ausgeführt, hat Stakman als erster auf die Möglichkeit des Nachweises physiologischer Rassen durch charakteristische Unterschiede des Myzelwuchses bei künstlicher Kultur aufmerksam gemacht und zusammen mit seinen Schülern (32 und 38) verschiedene Pilze in dieser Hinsicht bearbeitet. Wenn dabei immer wieder versucht wurde, Zusammenhänge zwischen dem Verhalten des Pilzes auf künstlichem Nährboden und der Pathogenität bestimmten Sorten gegenüber aufzufinden, so müssen wir uns vor Augen halten, daß hierbei, vor allem bei den Branden, der Begriff „physiologische Rasse“ in zwei verschiedenen Bedeutungen benutzt wird. Er gilt einmal als Bezeichnung für die charakteristischen Unterschiede haploider monosporidialer Linien in künstlicher Kultur, das andere Mal zur Feststellung der Pathogenität für einen Diplonten, da, wenigstens bei den Branden, zum Zustandekommen einer Infektion eine Kombination von zwei verschiedengeschlechtlichen Haplonten erforderlich ist. Diese Verhältnisse müssen bei der Deutung von Kulturversuchen klar und scharf erkannt werden.

Rodenhisser (32), der im Jahre 1928 Versuche über Wuchsbilder bei verschiedenen Branden veröffentlichte, arbeitete allerdings noch nicht mit haploiden monosporidialen Linien, sondern mit Sporengemischen. Seine Untersuchungen, die allerdings den Steinbrand noch nicht einschlossen, führten zu dem Ergebnis, daß bei allen bearbeiteten Branden physiologische Rassen auf künstlichem Nährboden unterschieden werden konnten. Die Unterschiede bestanden nicht nur im Wuchsbild, sondern auch in

der Wuchsgeschwindigkeit, Sporidienbildung, Verhalten gegenüber Temperaturen usw. Er fand weiter, daß sowohl zwischen *Ustilago tritici* und *nuda* als auch zwischen *Ustilago avenae* und *levis* die Unterschiede nicht so groß waren wie innerhalb jeder einzelnen Art. Da er sogar ganz gleiche Kulturen bei beiden Gruppen fand, nahm er an, daß es sich trotz morphologischer Unterschiede der Sporen nur um physiologische Rassen ein und derselben Art handelt. Obwohl Massenkulturen gemacht wurden, war die Übereinstimmung bei den Wiederholungen unter sonst gleichen Bedingungen sehr gut. Seine Ansicht, daß die Optimaltemperaturen für die einzelnen physiologischen Rassen auf der Kultur in Beziehung stehen könnten mit dem Vorwiegen dieser oder jener Rasse auf der Pflanze in den einzelnen Jahren bei verschiedenen Temperaturen, ist noch nicht erwiesen. Ein von Isenbeck (20) bei *Helminthosporium gramineum* gefundener Fall, in dem drei auf künstlichem Nährboden stark unterschiedliche Typen auch in der Pathogenität verschieden waren, dürfte als Ausnahme anzusehen sein.

Kienholz und Heald (21) befaßten sich als erste mit dem Wuchsverhalten von *Tilletia* auf künstlichen Nährböden. Auch sie arbeiteten nicht mit haploiden Linien, sondern mit Sporengemischen. Sie faßten ihre Ergebnisse dahin zusammen, daß es keine Konstanz der Wuchsbilder gibt und physiologische Rassen nicht allein durch Kulturcharaktere getrennt werden sollten.

Da es im Verlauf der eigenen Untersuchungen nunmehr gelungen war, eine große Anzahl haploider monosporidialer Linien von *Tilletia* zu isolieren, darunter auch eine Anzahl von Einzelspornachkommenschaften, erschien es als eine lohnende Aufgabe, dieses Material nach verschiedenen Gesichtspunkten auf künstlichen Nährböden zu untersuchen. Es sollte festgestellt werden, 1. ob und wodurch sich die Herkünfte auf künstlichen Nährböden unterscheiden lassen, 2. wie es mit der Konstanz der Wuchstypen steht und 3. wie groß die Einheitlichkeit der Sporidien innerhalb von Einzelspornachkommenschaften ist.

Zur Untersuchung standen zur Verfügung:

1933 . . . . .	48 monosporidiale Linien
1934 . . . . .	154 monosporidiale Linien
1935 . . . . .	<u>73 monosporidiale Linien</u>

Im ganzen 275 monosporidiale Linien.

Das zur Untersuchung kommende Sporidienmaterial wurde auf dem früher erwähnten Nährboden in 250 ccm-Erlenmeyerkolben herangezogen. Dabei wurde Folgendes beachtet: 1. Statt der üblichen 1,5 % Agar wurden für diese Versuche 2 % genommen, um in den Erlenmeyerkolben die Bildung einer Feuchtigkeitsschicht zu vermeiden, die eine Veränderung des Wuchsbildes hervorrufen könnte. 2. Jede haploide Linie wurde in

Tabelle 3.  
Bonitierung von Wuchsbildern monosporidialer Linien.  
(Photographiert auf Tafel 1-3)

Kultur	Größe cm	Farbe	Mitte der Kultur			Rand der Kultur			Bemerkungen
			Gefalte	Auf- gewölbt	Hin- ge	Mitte	Außen	Auf- gelockert	
T 3	1—1	3,5	braun	+	+++	+++	+	++	0,5
T 20	1—8 3—2	3,5 4,0	gelb-weiß-braun weiß	+++	+++	+++	++	++	0,75
T 8	2—5 7—4 18—2	2,0 4,0 6,0	gelb-braun gelb weiß	+++	+++	+++	+++	+++	1,0 1,5
T 23	17—5 17—6 17—14	2,0 2,5 5,0	weiß-gelb weiß weißgrau	+++	+++	+++	+++	+++	0,5 0,25 1,00
T 76	1—17	5,0	weiß	+++	+++	+++	+++	+++	0,50
	17—4 19—10	5,0 3,5	grau-weiß weiß	++	++	++	++	++	0,50 0,75
T 45	2—2	5,0	grau-braun	++	++	++	++	++	0,75
	2—3	4,0	weiß-gelb	+++	+++	+++	+++	+++	0,50
	2—4 2—5 2—7	4,0 4,0 4,0	weiß-gelb	+	+	+	+	+	1,00

drei bis vier Wiederholungen angesetzt. 3. In einer Versuchsserie wurden sämtliche Kulturen zu gleicher Zeit angesetzt und bis zur Bonitierung unter gleichen Bedingungen gehalten, die etwa nach vier Monaten Wuchszeit erfolgte.

Da es nicht möglich ist, im Rahmen dieser Veröffentlichung das gesamte Beobachtungsmaterial zur Darstellung bzw. zur Besprechung zu bringen, wird in der Tabelle 3 und auf den Abbildungen 1 bis 3 ein kleiner Ausschnitt aus dem Gesamtmaterial gegeben, aus dem die charakteristischen Befunde dieser Untersuchung ersehen werden können.

In der Tabelle 3 ist versucht worden, für eine beschränkte Anzahl von monosporidialen Linien die verschiedenen Wuchsmerkmale zahlen- bzw. zeichenmäßig zur Darstellung zu bringen. Zur weiteren Differenzierung der einzelnen Eigenschaften wurden Plus-Zeichen (+) verwendet; je mehr Plus-Zeichen, umso stärker trat die betreffende Eigenschaft hervor.

Die Größe der Kulturen — auch der hier nicht aufgeführten — schwankte zwischen 2 und 6 cm. Kultur T 23—17—5, auf der Übersicht verzeichnet, hat einen Durchmesser von 2 cm, T 8—18—2 einen Durchmesser von 6 cm. Die Größe konnte nicht als Unterscheidungsmerkmal für die einzelnen Herkünfte dienen.

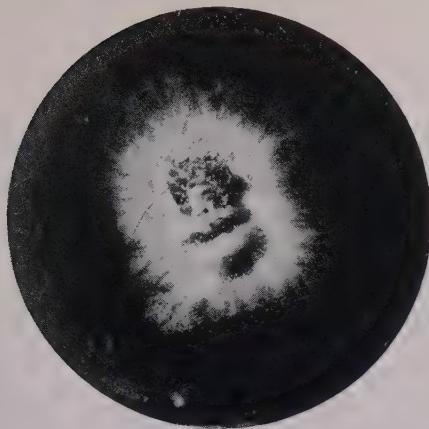
Wenn auch eine schneeweisse Farbe vorherrschte, so konnten doch auch graue, gelbe und braune Kulturen und Mischungen dieser Farben beobachtet werden. Auf Kultur T 20—1—8 kommen alle drei Farben außer braun nebeneinander vor. T 3—1—1 ist ganz braun, T 45—2—2 graubraun. Die Herkunft 41 (Zürich) — in der Übersicht nicht verzeichnet — zeichnete sich durchweg durch einen gelbbraunen Ton aus. In diesem einen Falle könnte es möglich sein, auf Grund des Farbmerkmals eine Herkunftsgruppe von den anderen zu trennen.

Weiterhin wurde die Mitte der Kultur bonitiert; es wurde festgestellt, ob sie glatt, gefaltet oder aufgewölbt war, Tropfen, Ringe oder Flecken aufzuweisen hatte.

Endlich wurde noch der Rand der Kultur einer Bonitierung unterzogen, indem auf Abgrenzung von der Mitte, von außen, auf Auflockerung und auf Breite geachtet wurde.

Die in der Tabelle 3 verzeichneten Linien sind in den Abbildungen 1 bis 3 zur bildlichen Darstellung gebracht. Diese vermögen vielleicht besser als alle Worte die starke Mannigfaltigkeit des Wuchsbildes verschiedener monosporidialer Linien von *Tilletia* erkennen zu lassen und zu zeigen, daß es ein für eine bestimmte Herkunft charakteristisches Wuchsbild nicht gibt.

Betreffs der Konstanz der Wuchsbilder sei auf Abb. 4 verwiesen, auf der Sporidien der Herkünfte T 8 und T 23 aus den Jahren 1933 und 1934 gegenübergestellt werden. Obwohl in diesen beiden Jahren verschiedene Temperaturen herrschten und der Nährboden infolge verschie-



a) T 3-1-1



b) T 8-7-4



c) T 20-1-8



d) T 8-18-2

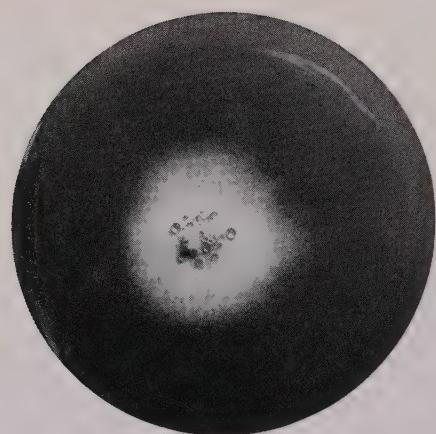


e) T 20-3-2



f) T 8-2-5

Abb. 1.  
Wuchsbilder monosporidialer Linien von *Tilletia tritici*.



a) T 23-17-6



b) TS 76-19-10



c) T 23-17-5



d) TS 76-17-4



e) T 23-17-14



f) TS 76-1-17

Abb. 2.  
Wuchsbilder monosporidialer Linien von *Tilletia tritici*.



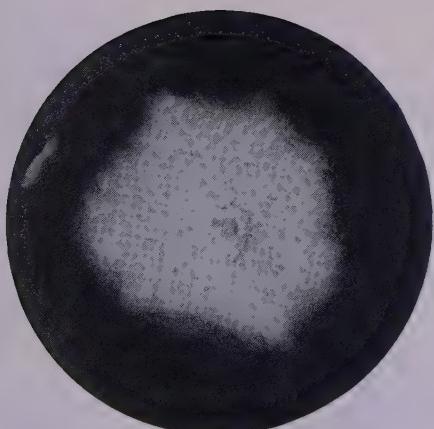
a) T 45-2-4



b) T 45-2-2



c) T 45-2-5



d) T 45-2-3



e) T 45-2-7

Abb. 3.

Wuchsbilder monosporidialer Linien von *Tilletia tritici* aus einer Einzelspornachkommenschaft.

dener Kartoffelproben und verschiedenen Agars zweifellos eine etwas andere Zusammensetzung hatte, ist eine gewisse Übereinstimmung nicht zu leugnen. Die hier abgebildeten Sporidien und zehn Sporidien der Herkunft T 42—8 wurden vor kurzem noch einmal zur Beobachtung des Wuchsbildes im Erlenmeyerkolben angesetzt. Einige zeigten heute schon eine genaue Übereinstimmung mit den vorliegenden Wuchsbildern.

Von besonderem Interesse war es weiterhin, vom Wuchsbild der aus Einzelsporen stammenden sporidialen Nachkommenschaften Rückschlüsse auf das Vorwiegen der Homo- bzw. Heterozygotie der *Tilletia*-Sporen zu ziehen. Nicolaisen (24) fand bei seinen Untersuchungen mit *Ustilago avenae*, daß in keinem Falle die vier Gameten einer *Ustilago*-Spore vollständig gleich waren und schloß daraus auf eine starke Heterozygotie der Sporen.

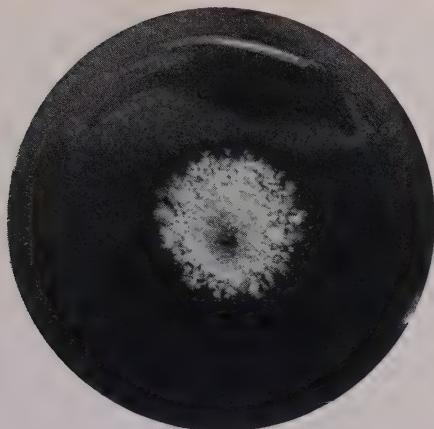
Das eigene Material zeigt in den weitaus meisten Fällen eine außerordentliche Verschiedenartigkeit des Wuchsbildes der aus einer Spore gezogenen Linien. Dies ist besonders gut ersichtlich auf Abb. 2 bei den Sporidien T 23—17—5, 6 und 14, ferner noch bei der hierher gehörigen T 23—17—11 auf Abb. 4. Abb. 3 zeigt die Spore T 45—2 mit allen fünf isolierten Sporidien. Hiervon sind drei von annähernd gleichem Wuchstyp. Das gleiche Wuchsbild wie diese drei Linien zeigten sämtliche zehn Sporidien der Spore T 42—8 (hier nicht verzeichnet). Dieser Fall ist jedoch bei Sporenmaterial in der ersten Generation nur einmalig festgestellt worden. Eine Vereinheitlichung des Wuchstyps trat durch weitere künstliche Kombinationen ein. So war die Nachkommenschaft der Kreuzung T 8—17—3 × T 23—22—1 im allgemeinen weit gleichmäßiger im Wuchsbild als das Sporidienmaterial der beiden Eltern.

Da *Tilletia levis* in Deutschland, wenn auch nur in geringerem Maße, vorkommt, wurden Sporidien auch von dieser Art isoliert und auf ihr Wuchsverhalten geprüft. Es ließ sich feststellen, daß 1. im Wuchsbild kein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Arten vorhanden ist und 2. die Wuchsgeschwindigkeit bei beiden annähernd gleich ist. Kienholz und Heald fanden *levis* schneller wachsend als *Tilletia tritici*.

Die vorliegenden Untersuchungen stellen die ersten Beobachtungen über Wuchsverhalten haploider Linien von *Tilletia* dar. Sie sind als Grundlage für weitere Versuche zu betrachten und sollen hier nur zu folgenden vier Feststellungen Anlaß geben:

1. Mit Hilfe eines Bonitierungsschemas und verschiedener Abbildungen wird ein Bild über die verschiedenen Wuchsmerkmale von *Tilletia tritici* auf künstlichen Nährböden gegeben.
2. Es wird eine unbedingte Konstanz der Wuchsbilder durch drei- bis vierfache Wiederholungen ein und derselben Kultur zur gleichen Zeit und eine bedingte Konstanz bei Wiederholungen zu verschiedener Zeit festgestellt.
3. Weiterhin wird gezeigt, daß die verschiedenen Herkünfte Linien von gleichem

1934



a) T 23-17-5

1933



b) T 23-17-5



c) T 23-17-11



d) T 23-17-11



e) T 8-2-5



f) T 8-2-5

Abb. 4.

Wuchsbilder monosporidialer Linien von *Tilletia tritici* in zwei aufeinanderfolgenden Jahren.

Wuchscharakter enthalten, das Wuchsbild also als Mittel zur Identifizierung verschiedener Herkünfte ungeeignet ist. 4. Das untersuchte Sporenmaterial zeigt in bezug auf Wuchsmerkmale ausgesprochene Heterozygotie; nur sehr selten wurden homozygote Sporennachkommenschaften gefunden.

### III. Sexualitätsverhältnisse bei *Tilletia tritici*.

#### Methodik der Myzelinfektion.

Um über die Sexualitätsverhältnisse bei den Brandpilzen Klarheit zu gewinnen, sind zwei Wege beschreitbar. Der erste Weg führt über die direkte Beobachtung von Kopulationen in Kombinationen monosporidialer Linien auf der Kultur. Dieser Weg ist der einfachste; er ist aber nicht immer möglich, da verschiedene Brände trotz mannigfacher Versuche bisher auf künstlichen Nährböden nicht zur Kopulation zu bringen waren. Der zweite Weg zur Erkennung verschiedengeschlechtlicher monosporidialer Linien führt über die Wirtspflanze. Ausgehend von der Tatsache, daß nur dikaryotisches Myzel befähigt ist, in der Pflanze zu Brandsporenbildung zu gelangen, darf man folgern, daß in einer Kombination von haploiden Linien, die Befall hervorruft, die beiden Komponenten verschiedengeschlechtlich sind. Weitere Schlüsse in der Art, daß hoher Befall auf stärkere und niedriger Befall auf schwächere Sexualitätstendenz hinweist, dürfen nicht gezogen werden, da neben den Sexualitätsfaktoren auch noch solche der Aggressivität gegenüber der betreffenden Wirtssorte wirksam sind. Für *Tilletia tritici* ergibt sich die Notwendigkeit, den zweiten Weg d. h. die Infektion der Wirtspflanze zu beschreiten, da wegen des myzelialen Wuchses der Sporidien auf der Kultur die Beobachtung von Kopulationen große Schwierigkeiten bereitet. Es ergaben sich also für die weiteren Untersuchungen zwei Aufgaben: einmal die für die Infektion erforderlichen Mengen an Myzelmaterial heranzuziehen und dann vor allem eine brauchbare Methode für die Myzelinfektion zu entwickeln.

Bei der Vermehrung des Myzels gingen Bodine und Durrell von der Tatsache aus, daß Sekundärsporidien abgeschossen wurden, die sich im Reagenzglas dann schleierartig verbreiteten. Sie steckten die Reagenzgläser umgekehrt auf die Erlenmeyerkolben, damit die Sporidien nach unten auf den mit Nähragar bedeckten Boden geschossen wurden. Nach zwei bis vier Tagen war der Boden mit Sporidien bedeckt. Kienholz und Heald schlugen vor, nur so viel Agar zu nehmen, als unbedingt zur Festigung des Nährbodens nötig ist, da eine stärkere Feuchtigkeit des Nährbodens, wie es bereits auch Sartoris schon festgestellt hatte, das Myzelwachstum günstig beeinflußt. Kienholz und Heald fügten dann dem Kolben sterilisiertes Wasser hinzu und schufen dadurch eine Sporidieneaufschwemmung, die sie zur weiteren Vermehrung in andere Kolben brachten.

Bei den eigenen Versuchen wurden zunächst die haploiden Linien zur Vermehrung im Erlenmeyerkolben mit 4% Kartoffelsucrose-Nährboden + 2% Agar herangezogen. Bei einer Zimmertemperatur von etwa 20° C dauerte es immerhin ungefähr zehn Wochen, bis die Oberfläche eines 200 ccm Erlenmeyerkolbens mit Myzel bedeckt war. Da die Heranzucht des Myzels zu langsam vonstatten ging, mußten Wege gesucht werden, diesen Vorgang zu beschleunigen. Die Myzelvermehrungsmethode von Bodine und Durrell war zu umständlich in ihrer Ausführung; bei der Methode von Kienholz und Heald konnte durch Verunreinigung beim Ein- und Umschütten leicht alles schon vorhandene Material verdorben werden. Der Weiterentwicklung kam folgende Beobachtung zustatten: Nach Entnahme der Kulturen aus dem Erlenmeyerkolben war der zurückbleibende Agar in zwei Wochen wieder dick mit Myzel überzogen. Mit der Kultur ging nämlich ein Teil der Agaroberfläche zugleich ab, und die neue feuchte Oberfläche schien äußerst günstig für das Myzelwachstum zu sein. Genügende Feuchtigkeit im Erlenmeyerkolben zu schaffen, war also äußerst wichtig. Von nun an wurde zur Erreichung der notwendigen Nährbodenfeuchtigkeit das Nährmedium nur mit 1,4% Agar hergestellt, so daß noch mindestens eine Woche lang die Oberfläche des Nährbodens wenigstens zum Teil mit einer Flüssigkeitsschicht bedeckt war. Das übergeimpfte Myzel wurde bei 15 bis 20° C gehalten und alle zwei Tage in Kolben umgeschüttelt, so daß die Randflüssigkeit sich über die ganze Oberfläche verteilte. Dabei vermehrten sich die Sekundärsporidien so stark, daß nach 14 Tagen die ganze Oberfläche des 200 oder 250 ccm-Kolbens mit dickem weißen Myzel bedeckt war. Damit war das Problem der Schaffung des notwendigen Myzelmaterials gelöst; in zwei Wochen wurde nunmehr mühelos das erreicht, wozu früher zehn Wochen notwendig waren.

Die zweite, wichtigere Aufgabe bestand nunmehr in der Entwicklung einer brauchbaren Infektionsmethode. Für jedes erfolgreiche Arbeiten auf dem Gebiete der Immunitätszüchtung ist eine gute Infektionsmethode die allererste Vorbedingung. Für die Steinbrand-Sporeninfektion ist durch Roemer-Bartholly (31) in Anlehnung an die Methode Reed für Haferflugbrand eine Methode geschaffen worden, die zu recht befriedigenden Ergebnissen geführt hat. Als günstigste Infektionstemperatur wurde hierbei 10° C gefunden. Daß höhere Temperaturen während der Infektionszeit den Befall verringerten und ein mäßig feuchter Boden einen höheren Befall hervorrief, wurde bereits von Caspar (5) festgestellt und von Roemer-Bartholly für die Sporen-Infektionsmethode ausgewertet.

Bezüglich der Myzelinfektion sind von verschiedenen Forschern methodische Versuche angestellt worden, die jedoch nur zum geringsten Teil erfolgreich verliefen. Sartoris (34) ließ Weizen in Kolben aus-

keimen, die Steinbrandkulturen enthielten; doch ohne Erfolg. Kienholz und Heald (21) tauchten die Körner in eine Lösung von Sekundärsporidien und übergossen die Körner im Boden nochmals mit der Lösung; Befall erhielten sie nicht. Bodine und Durrell (2) steckten das Myzel in die Keimscheide junger Pflanzen oder spritzten mittels einer Injektions-spritze Suspensionen ein. Bei der letzteren Methode trat Befall bis 10 °C ein. Die Infektionstemperatur betrug 15 °C, ebenso die Temperatur in der weiteren Wuchszeit. Bei 20 °C war der Befall geringer, bei 25 °C blieben alle Pflanzen gesund. Es zeigt sich hier also die gleiche Abhängigkeit von der Infektionstemperatur wie bei der Sporeninfektion. Die Nichtberücksichtigung dieses Faktors dürfte wohl auch für das Fehlschlagen der Infektionsversuche von Sartoris und Kienholz und Heald verantwortlich zu machen sein. Flor (9) ging nun auf dem Wege weiter, den Bodine und Durrell eingeschlagen hatten. Er infizierte in der Weise, daß er Myzelstückchen von zwei haploiden Linien in die angeritzte Koleoptile des Keimlings brachte. Nach der Infektion hielt er die Keimlinge etwa vier Tage bei 15 °C, sie kamen dann bei gleicher Temperatur in sterilisierten Boden, wo sie zwei Wochen lang verblieben. Je Kombination wurden etwa 15 Pflanzen infiziert. Der Weizen schoßte etwa nach neun Wochen, vom Keimen an gerechnet. Er erhielt, wenn auch geringen, Befall.

Zu den eigenen Versuchen wurden als hochanfällige Weizensorten Panzer, Ackermanns Bayernkönig, Rimpaus früher Bastard als Winterweizen und Peragis und Vehanti als Sommerweizen verwendet. Die einzelnen methodischen Versuche zur Myzelinfektion lassen sich zeitlich sowohl als auch methodisch in drei Abschnitte gliedern:

1. Myzelstückchen zweier haploider Linien werden nebeneinander auf den Embryo des Kernes gelegt. Das für die Infektion bestimmte Saatgut wurde vorher in 1%iger Kupfervitriol-lösung  $\frac{1}{2}$  Stunde gebeizt und nachher sorgfältig abgewaschen. Je Kombination gelangten 50 bis 100 Körner zur Infektion. Die Körner wurden in den mit feuchtem Filterpapier versehenen Petrischalen ausgelegt, in der vorher erwähnten Weise infiziert und dann etwa 10 bis 14 Tage lang bei einer Temperatur von ungefähr 10 °C gehalten. Nach dieser Zeit wurden die Keimlinge in Tonschalen ausgepflanzt und mit Sand bedeckt. Sie verblieben dann bis zum Späten (in etwa einer Woche) bei gleicher Temperatur. Dann wurden sie in einen Raum mit höherer Temperatur (etwa 15 °C) überführt und nach zwei bis drei Wochen entweder ins Feld ausgepflanzt oder bei den Herbst- und Winterversuchen im Gewächshaus unter zusätzlicher künstlicher Beleuchtung (Nicolaisen, 24, S. 5) herangezogen. Die Anzucht bei verhältnismäßig niedrigen Temperaturen wurde in Anlehnung an die Versuche von Smith (36) vorgenommen, der feststellte, daß hohe Temperaturen während der Zeit nach der Infektion den

Steinbrandbefall vermindern. Bei der Durchführung dieser Versuche wurde noch folgende Beobachtung gemacht. Das Pflanzenmaterial im Gewächshause wurde nach dem Schossen nur wenig begossen, um die Reife zu beschleunigen. Wenn nun kurz vor der Reife wieder mehr Wasser zugesetzt wurde, wurden in reichlichem Maße aus den basalen Blattknoten frische Sprößlinge ausgetrieben, die mehrfach — im Gegensatz zum gesunden Haupthalm — erkrankt waren. Ähnliche Beobachtungen machte auch Flor (10). Sowohl Feld- wie auch Gewächshausversuche, die nach der erwähnten Methode infiziert wurden, ergaben nur sehr geringen Befall und ließen es wünschenswert erscheinen, einen anderen Weg zu versuchen.



Abb. 5.

Mischung von Kulturen haploider Linien von *Tilletia tritici*.

Links und rechts die beiden Haplo-Kulturen,  
in der Mitte die Mischung.

2. Haploide Myzelien werden vor der Infektion gemischt. Die grundsätzliche Erwägung bei der Weiterführung der Versuche war die, daß in dem Falle, wo Myzelstückchen zweier Haplonten auf den Embryo des Korns gelegt werden, die Kopulation zweier verschiedengeschlechtlicher Myzelien wahrscheinlich so spät eintritt, daß kaum noch rechtzeitig Kopulationsschläüche in den heranwachsenden Keimling eindringen können. Es wurde daher versucht, die Kombination schon vor der Infektion vorzunehmen. Eine Methode, die Mischung zweier Haplonten im Erlenmeyerkolben durchzuführen, scheiterte an der mangelnden Tendenz der beiden Linien, ineinander zu verwachsen. Dieses wird sehr deutlich in der Abb. 5, in der links und rechts die beiden haploiden Linien und in der Mitte die Kombination im Erlenmeyerkolben zur Darstellung gebracht sind.

Daraufhin wurden die Kombinationen schon im Reagenzglase ausgeführt und das kombinierte Myzel in Erlenmeyerkolben vermehrt. Da auch das auf diese Weise gewonnene Infektionsmaterial keine be-

friedigenden Befallsergebnisse brachte, wurde der Entschluß gefaßt, die haploiden Linien ähnlich wie beim ersten Versuch erst auf dem Korn zu vereinigen, sie jedoch kurz vorher innig zu mischen und bei geschlechtlich verschiedenen Linien eine Kopulation so früh herbeizuführen, daß die Kopulationsschläuche noch gut in den Keimling eindringen konnten. Es wäre möglich, daß das dikaryotische Myzel im status nascendi eine höhere Infektionstüchtigkeit besitzt, als wenn die Kombination schon vor längerer Zeit erfolgt ist. (Für diese Annahme sprechen Versuche, die mit Myzel aus verschiedenen Sporenmischungen durchgeführt wurden. Trotz Anwendung verschiedenster Methoden trat kein Befall ein.) Die Mischung der haploiden Linien erfolgte dadurch, daß sie zusammen im Mörser verrieben oder durch ein Sieb gepreßt wurden. Das sonst so empfindliche Myzel büßte hierbei seine Wuchskraft nicht ein. Die Infektionsergebnisse dieser Methode waren recht günstig. Sie sind in der nachstehenden Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4.  
Infektionsergebnisse bei zwei verschiedenen Methoden.  
(Koleoptile und Sieb.)

		1—8		1—10		3—1		3—2	
		Peragis	Hohenheim 25f	Peragis	Hohenheim 25f	Peragis	Hohenheim 25f	Peragis	Hohenheim 25f
T 20									
1—8	Koleoptile . . . .				0,0	0,0	12,5	0,0	0,0
	Sieb . . . .				0,0	0,0	—	0,0	0,0
1—10	Koleoptile . . . .	—	—	—	.	.	9,1	9,1	0,0
	Sieb . . . .	—	—	—	.	.	18,2	—	0,0
3—1	Koleoptile . . . .	+	—	+	+	—	—	—	—
	Sieb . . . .	—	—	—	—	—	—	26,6	16,7
3—2	Koleoptile . . . .	—	—	—	—	—	+	+	50,0
	Sieb . . . .	—	—	—	—	—	—	—	23,6

Dieser Versuch wurde parallel mit einem Koleoptilinfektionsversuch durchgeführt. Je Kombination wurden 75 Körner infiziert. Während die linke Hälfte der Tabelle anzeigt, ob Infektion eingetreten war (Plus), gibt die rechte Hälfte Auskunft über die Höhe des Befalls in Prozent. Nach diesen erfolgversprechenden Anfängen wurde diese Methode weiter ausgebaut. Zur Beschleunigung des Mischens haploider Linien konstruierte Diplomlandwirt Pech im Sommer 1933 die nachstehend abgebildete Myzel-Mühle (Abb. 6 und 7).

Das Jahr 1934 brachte jedoch bezüglich dieser Methode eine große Enttäuschung. Aus bisher noch nicht erklärbaren Gründen war der Befall

so gering, daß eine Sicherheit der Ergebnisse nicht gewährleistet schien. Bei sämtlichen Versuchen wurde die Temperatur während und nach der Infektionszeit variiert, die Körner entweder erst in Petrischalen, dann in den Boden oder sofort in den Boden oder Sand gebracht, Belichtung und Feuchtigkeit verschieden gewählt. Wegen der geringen absoluten Höhe des Befalls, die eben in der Methode selbst begründet zu sein



Abb. 6.

Apparat zum Zerreiben des Myzels (Myzelmühle).

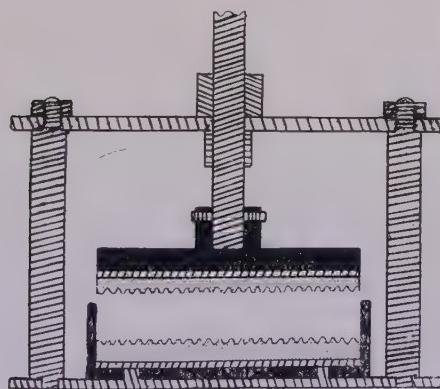


Abb. 7.

„Myzelmühle“ im Querschnitt.

scheint, kann über die Rolle der verschiedenen Umweltfaktoren nichts Eindeutiges gesagt werden.

3. Das Myzel wird in die Koleoptile infiziert (Flor). Ohne die eben beschriebene Methode aus den Augen zu verlieren, blieb zunächst nichts weiter übrig, als auf die Koleoptilinfektion Flors zurückzugreifen, die schon im Frühjahr 1934 gute Gewächshausergebnisse gebracht hatte. Wegen ihrer Langwierigkeit ist sie nicht ideal und nicht als endgültige Lösung zu betrachten. Die Infektion wurde folgendermaßen durchgeführt:

Für jede Kombination, deren Pathogenität geprüft werden sollte, wurden 75 Körner einer anfälligen Sorte bei  $15^{\circ}\text{C}$  angekeimt. War der Keimling etwa  $\frac{1}{2}$  cm lang, wurde er mittels einer feinen Nadel angeritzt. Die Infektion ging so vor sich, daß mit Hilfe dieser Nadel kleine Stückchen der beiden Haplomyzelien in die geöffnete Stelle der Koleoptile hineingesteckt wurden. Mit der Infektionstemperatur konnte man nach eigenen Beobachtungen bis auf  $15^{\circ}\text{C}$  gehen. Bei dieser immerhin etwas rigorosen Behandlung gingen etwa 25 Pflanzen ein, und die übrigen 50 waren im Wuchs stark geschwächt. Der Befall war befriedigend.

Mit diesen verschiedenen Methoden wurden 1932, 1933 und 1934 zusammen 130229 Körner infiziert. Das geerntete Infektionsmaterial wurde zum großen Teil auf das später zu besprechende Testsortiment gebracht, wozu noch einmal 32545 Körner infiziert wurden. Im ganzen gelangten also 162774 Körner zur Infektion.

Das Ziel einer hundertprozentig sicheren und verlässlichen Myzelinfektionsmethode ist noch nicht völlig gelöst. Die eigenen Versuche gestatten folgende Feststellung: 1. Die zunächst angewandte Infektionsmethode, bei der Myzelstückchen auf die Körner gelegt wurden, führte zu keinem Befall. 2. Durch innige Mischung des Myzelmaterials kurz vor der Infektion wurden zum Teil recht günstige Ergebnisse erzielt. Sie ermöglichte, in kurzer Zeit große Versuchsserien zu bewältigen. Doch befriedigt sie noch nicht hinsichtlich der Sicherheit der Infektion. 3. Es wurde daher vorläufig auf die Koleoptilinfektionsmethode von Flor zurückgegriffen.

#### Infektionsergebnisse und ihre Auswertung für die Sexualitätsverhältnisse.

Die ersten und bisher einzigen Versuche über Sexualität bei *Tilletia* sind von Flor (9) gemacht worden. Sowohl für *Tilletia tritici* wie auch für *Tilletia levis* fand er ein multipolares Schema. Flor kombinierte bei seinem ersten Versuch zwölf Sporidien einer Herkunft, die derselben Ähre entstammten, untereinander und erhielt drei Geschlechtsgruppen: I. Gruppe: Kultur A + B verursachten Infektion. II. Gruppe: Kultur C + D verursachten Infektion. A oder B mit C oder D ergaben keine Infektion. III. Gruppe: E mit A, B, C oder D ergaben keine Infektion. Bei haploiden Linien von *Tilletia levis* wurden ähnliche sexuelle Gruppen gefunden. *Tilletia tritici* und *Tilletia levis* ließen sich gut kreuzen und zeigten dabei dasselbe Verhalten wie *Tilletia tritici* oder *Tilletia levis* allein. Ein Unterschied bestand also nur in der Sporenform. Die aus *tritici*  $\times$  *levis* neu erzeugten Sporen waren glatt. Unter 10 000 und mehr untersuchten Brandähren beobachtete Flor, daß selten reine Formen von *levis* und *tritici* nebeneinander vorkommen, statt dessen alle Übergänge. Es ist daraus zu schließen, daß die Verbindung *tritici*  $\times$  *levis* auch in der Natur häufig zustande kommt.

Die sogenannte „multipolare Sexualität“ hatte als erster Kniep (22) bei den Hymenomyceten festgestellt. Bauch (1) fand diese auch bei *Ustilago longissima*. Durch die Entdeckung des Wirrfadentypus bei *Ustilago longissima* war es möglich geworden, die Tetrapolarität in ein bipolares Schema einzurichten, wenn von dem Infektionserfolg abgesehen wurde. Er erklärte die Tetrapolarität durch dihybriden Erbgang, also Vorhandensein verschiedener selbständiger wirkender Faktoren. Die A-Faktoren sind maßgebend, ob Wirr- oder Suchfadentyp gebildet wird (Letal- oder Sterilisationsfaktoren); die B-Faktoren sind verantwortlich dafür, ob Kopulation eintritt oder nicht (Nach Kniep: Kopulationsbedingende Faktoren). Ausschlaggebend ist jedoch, daß Bauch auch bei den *Ustilaginales*, zu denen auch *Tilletia* gehört, Multipolarität gefunden hatte.

Die Ergebnisse von Flor wurden erst im Sommer 1932 bekannt, als die eigenen Versuche schon im Gange waren. Sie bedurften einer Nachprüfung wegen der geringen Pflanzenzahl, die Flor genommen hatte; ferner sollten nicht wahllos Sporidien genommen werden, sondern möglichst von ein und denselben Sporen, um festzustellen, ob innerhalb der Einzelsporinnachkommenschaften ebenfalls Multipolarität vorlag. Weiterhin standen noch die Fragen über Neukombination und Vererbung offen. Hinsichtlich der Bezeichnung der Sporen in den nun folgenden Infektions-tabellen wird auf die Tabelle 2a verwiesen.

Im Jahre 1933 wurden die ersten größeren Freilandversuche von Winter- und Sommerweizen abgeerntet. Doch waren die Ergebnisse für die Auswertung der Versuche hinsichtlich der sexuellen Verhältnisse noch zu lückenhaft. Sie konnten nur zur Bestätigung der im folgenden Frühjahr im Gewächshaus mit Koleoptilinfektion durchgeföhrten Versuche dienen, die mit denselben Kombinationen infiziert wurden. Diese Versuche sollten die Sexualitätsverhältnisse innerhalb einzelner Sporennachkommenschaften feststellen. Der erste Versuch ist in der Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5.  
Infektionsergebnisse bei Kreuzung:  
a) Von 6 Sporidien derselben Spore.

T 23	21—3 +	21—4 —	21—5 —	21—6 +	21—8 +	21—10 —
21—3 +	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
21—4 —	—	—	0,0	30,4	52,0	0,0
21—5 —	—	—	—	3,1	0,0	0,0
21—6 +	—	+ (+)	+ (—)	—	0,0	2,4
21—8 +	—	+	— (—)	—	—	14,9
21—10 —	—	—	—	—	+	—

Von T 23 (Herkunft Lyngby) wurden alle sechs Sporidien untereinander kombiniert. Die Übersicht zeigt durch Plus- und Minuszeichen

in der linken Hälfte, ob Befall eingetreten ist oder nicht; in der rechten Hälfte wird die Höhe des Befalls in Prozenten angegeben. Die einklammerten Zeichen deuten den Befall des Vorjahres an. Von den sechs Sporidien, die einer einzigen Sporennachkommenschaft entstammten, können drei Sporidien als + - und drei Sporidien als - - geschlechtlich bezeichnet werden; es besteht also Bipolarität. In den Fällen, in denen entgegen der Erwartung kein Befall eintrat, mag die Ursache darin liegen, daß bei der Infektionsmethode zuviel Pflanzen eingegangen sind.

Tabelle 6.  
b) Von 5 Sporidien derselben Spore.

T 23	22—1 —	22—2 +	23—3 +	22—5 —	22—6 +
22—1 —		0,0	0,0	0,0	3,8
22—2 +	—		0,0	5,9	0,0
22—3 +	—	—		9,4	7,9
22—5 —	—	+	+	—	2,6
22—6 +	+	—	+	+ (+)	

Auch die in der Tabelle 6 dargestellten Ergebnisse der Kombinationen zwischen den Sporidien der Spore T 23—22 deuten auf Bipolarität. Eine Ausnahme bildet die Kombination 22—3 × 23—6, die unerwarteterweise Befall ergab. T 23—22—1 wurde auf T 23—21—6 abgetestet und mit — bezeichnet. T 23—21—4 und T 23—21—6 dienten auch in der Folge als Tester für die anderen Sporidien: 21—4 gilt als —, 21—6 als +. Weitere Versuche mit anderen Sporennachkommenschaften ergaben das gleiche Schema und wurden deshalb nicht in Tabellenform niedergelegt. Bei der Spore T 23—17 war Sporidie 5 +; 6, 11 und 14 —.

Tabelle 7.  
Infektionsversuch zur Feststellung der Sexualitätsverhältnisse innerhalb einer Einzelsporennachkommenschaft von *Tilletia tritici*.

Her-kunft	Spore-Sporidie	Geschlecht	TS 76					
			19—2 +			19—7 —		
			Krank	Gesamtzahl	Krank %	Krank	Gesamtzahl	Krank %
TS 76	19—1	+	0	41	0,0	6	39	15,4
	19—2	+	0	44	0,0	—	—	—
	19—4	—	7	39	18,0	0	47	0,0
	19—5	—	12	45	26,7	0	45	0,0
	19—6	—	9	40	22,5	0	44	0,0
	19—7	—	2	39	5,1	0	39	0,0
	19—8	+	0	52	0,0	10	47	21,3
	19—9	+	0	46	0,0	18	53	33,9
	19—10	+	0	44	0,0	7	47	14,9
	19—11	—	18	41	43,8	1	49	2,0
	19—12	+	0	39	0,0	6	31	19,4
	19—13	—	13	38	34,2	0	48	0,0

Im Freiland konnte nur ein Koleoptilinfektionsversuch für die Sexualitätsverhältnisse bei *Tilletia tritici* ausgewertet werden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 7 niedergelegt und bringen ebenfalls klar und eindeutig die Bipolarität zum Ausdruck. Entgegen den Erwartungen ergab die Kombination von Sporidium 11 mit Sporidium 7 eine kranke Ähre, die wahrscheinlich auf Bodeninfektion zurückzuführen ist.

Ein weiterer Infektionsversuch, der in der Tabelle 8 dargestellt ist, bezieht sich auf die Rückkreuzung von 13 Sporidien der Spore T 364—4 mit den beiden Eltern TS 76—19—7 und TS 76—19—9. Hier dasselbe Bild wie vorher: Die Bipolarität ist weitgehend gewahrt, allerdings sind einige Ergebnisse unklar, vor allen Dingen die Kreuzungen mit den Sporidien 4—9 und 4—13.

Tabelle 8.  
Rückkreuzungsversuch zur Feststellung der Geschlechtsverhältnisse  
in einer Einzelspornachkommenschaft.

Her- kunft	Spore— Sporidie	Geschlecht	TS 76					
			19—7 —			19—9 +		
			Krank	Gesamt- zahl	Krank %	Krank	Gesamt- zahl	Krank %
T 364 (TS 76—19—7 × 19—9)	4— 1	—	0	54	0,0	5	58	8,6
	4— 2	+	2	43	4,7	0	34	0,0
	4— 3	+	1	37	2,7	0	41	0,0
	4— 4	—	0	41	0,0	3	49	6,1
	4— 5	—	0	41	0,0	7	40	17,5
	4— 6	—	0	47	0,0	5	49	10,2
	4— 7	—	0	43	0,0	22	42	52,4
	4— 8	—	0	46	0,0	11	53	20,8
	4— 9	?	0	42	0,0	0	45	0,0
	4—10	—	0	36	0,0	12	48	25,0
	4—11	—	0	53	0,0	8	38	21,1
	4—12	—	0	40	0,0	10	43	23,3
	4—13	?	0	44	0,0	0	42	0,0

Diese hier besprochenen Versuche stehen im gewissen Gegensatz zu den Ergebnissen von Flor, der für *Tilletia* multipolare Geschlechtsverhältnisse angibt. Die Abweichung mag darin ihre Erklärung finden, daß hier Sporidien derselben oder verwandter Sporen genommen wurden, wohingegen Flor wahllos Sporidien kombinierte.

Ein weiterer Versuch, der im Sommer 1934 durchgeführt wurde, brachte wesentlich andere Ergebnisse. Die Versuchsanstellung war genau die gleiche wie in den vorher besprochenen Versuchen. Als Versuchsorte diente Peragis Sommerweizen, die Infektion erfolgte nach der Koleoptilmethode von Flor, die Infektionstemperatur betrug 10° C. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus herangezogen. Am 1. November wurde der Befall ausgezählt. Bei diesem Versuch wurden 10 Sporidien der Herkünfte Pullman und Zürich mit vier dem Geschlecht nach bekannten

Sporidien abgetestet, und zwar verteilten sich die vier bekannten auf eine aggressive (T 20) und eine wenig aggressive (T 23) Herkunft. Sodann wurden die vier in ihrer Geschlechtszugehörigkeit bekannten Sporidien und etliche von den zehn unbekannten mit T 23—21—4 und 21—6 abgetestet.

Tabelle 9.  
Infektionsergebnisse bei Kreuzung von Sporidien  
verschiedener Sporen und Herkünfte von *Tilletia tritici*.

Nummer der			T 23		T 20		T 23	
Herkunft	Spore	Sporidie	17—5+	17—14—	3—1—	3—24	21—4	21—6+
Befalls-Prozente								
41	2	1+	0,0	0,0	0,0	2,9	35,9	0,0
	5	1—	0,0	14,8	0,0	0,0	0,0	11,1
	6	1—	0,0	0,0	0,0	0,0	—	7,1
	6	3+	0,0	0,0	14,7	2,6	—	—
45	1	1+	0,0	0,0	25,0	3,3	0,0	5,3
	2	2—	0,0	0,0	0,0	16,7	—	8,7
	2	3—	0,0	0,0	0,0	30,0	3,1	0,0
	2	4+	0,0	0,0	17,0	2,2	4,8	—
	2	5+	0,0	0,0	23,1	3,5	—	11,1
	2	7	0,0	0,0	0,0	0,0	—	—
23	21	4—	0,0	0,0	—	12,5	—	—
	21	6+	—	4,4	—	4,5	—	—

Wie die Tabelle 9 zeigt, sind die Ergebnisse nicht ohne weiteres in ein bipolares Schema einzuordnen. Von den Ergebnissen der Kreuzungen mit T 23—17—5 und 17—14 soll ganz abgesehen werden, da hier ein nennenswerter Befall überhaupt nicht eingetreten ist. Sehr eigenartig sind aber die Befallsprozente der Kreuzungen mit T 20—3—1 und 3—2. Das Sporidium 45—2—4 kombiniert mit T 23—21—4 (—) ruft Befall hervor, ebenfalls in Kombination mit dem — geschlechtlichen T 20—3—1, ist also zweifellos + geschlechtlich. Demnach ist es auffallend, daß das selbe Sporidium auch mit dem + geschlechtlichen T 20—3—2 Befall hervorruft. Ähnlich liegt der Fall bei anderen Kombinationen mit dem Sporidium T 20—3—2. Es sollen aus diesen wenigen Zahlen nicht zu weitreichende Schlüsse gezogen werden, doch wird man dabei stark an die von Hartmann (17) bei *Ectocarpus siliculosus* festgestellten Beobachtungen erinnert, die er mit der Erscheinung der sogenannten „relativen Sexualität“ erklärt. Er fand sowohl starke männliche als auch starke weibliche Gameten. Bei den starken Gameten sind mehr männliche bzw. weibliche Potenzen als bei den schwachen vorhanden. Es können nicht nur die männlichen mit den weiblichen Gameten kopulieren, sondern auch die starken ♂ mit den schwachen ♂ und die schwachen ♀ mit den starken ♀. Bei unserem Versuch könnte T 20—3—2 auch als schwaches ♂ angesehen

werden, das in Kombination mit den starken ♂ 45—2—4, 45—2—5 usw. noch Befall hervorruft.

Daß bei den *Ustilaginales* die Geschlechtsverhältnisse nicht so feststehend sind wie bei höheren Pflanzen, hat auch schon Sleumer (35) festgestellt. Er fand, daß Monosporidialkulturen von *Ustilago zaea* im Laufe der Zeit ihr Geschlecht ändern können und daß Kombinationen, die früher Befall hervorriefen, dieses später nicht mehr vermochten.

Wenn durch die vorliegenden Untersuchungen auch noch nicht die Möglichkeit gegeben ist, die Sexualitätsverhältnisse bei *Tilletia tritici* restlos zu klären, so darf doch festgestellt werden, daß 1. innerhalb der Nachkommenschaften von Einzelsporen bipolare Sexualität vorliegt, 2. bei Kombination von Sporidien verschiedener Sporen bzw. verschiedener Herkünfte dieses Bild der Bipolarität zugunsten komplizierterer Verhältnisse gestört wird.

#### IV. Vererbung der Aggressivität und des Wuchsverhaltens monosporidialer Linien von *Tilletia tritici*.

Um die Vererbung der Aggressivität in den aus Myzelinfektionen hervorgegangenen Kombinationen zu studieren, mußte die geerntete Sporenmenge auf ein Testsortiment gebracht werden (wie bei *Ustilago avenae*, Nicolaisen, 24). Das Testsortiment konnte nur dann infiziert werden, wenn genügend Brandähren je Kombination geerntet wurden. Es kam für diese Versuche daher nur Sporenmaterial aus Feldversuchen in Betracht, da die Gewächshausversuche sowohl wegen der geringen Anzahl als auch der kümmerlichen Ausbildung der Brandähren zu wenig Infektionsmaterial liefern. Bevor auf die Ergebnisse der Infektion des Testsortiments eingegangen wird, soll dieses in seiner Zusammensetzung kurz besprochen werden.

Im Testsortiment von Rodenhiser und Stakman (33) waren nur die drei Sommerweizensorten Einkorn, Marquis und Kota vorhanden. Wegen der hohen Anfälligkeit von Kota wurde diese Sorte zur Vermehrung der Herkünfte (Italien, Ägypten, Schweiz, Ungarn, Minnesota und Neuseeland) benutzt. Infolge des kleinen Testsortimentes und wahrscheinlich auch infolge der unbefriedigenden Infektionsmethode waren kaum physiologische Rassen zu unterscheiden. Roemer (29) und Gaines (11) hatten größere Unterschiede zu verzeichnen, da sie ein besseres Testsortiment besaßen: Heils Dickkopf, Hohenheimer 77, Ridit, Martin, Hussar, White Odessa und Panzer III. 1925 waren die darin enthaltenen amerikanischen Sorten bei einer Prüfung von 500 verschiedenen Weizensorten von Gaines noch als immun bezeichnet worden. Aber im Jahre 1927 galten durch die Versuche von Sampson (8) nur Hussar und Martin als brandfrei, Ridit und White Odessa als sehr widerstandsfähig. Dazu traten Heils Dickkopf und Hohenheimer 77 mit beschränkter Widerstandsfähig-

keit. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Gibbs (12), Roemer (29) Gieseke (13) und Feucht (8). Nach den Untersuchungen von Roemer, Gieseke und Feucht erwies sich Ridit stets als die widerstandsfähigste Sorte des Testsortiments.

Das Sommerweizen-Testsortiment setzte sich zusammen aus sechs Sorten: Strubes Roter Schlanstedter, Hohenheimer 25f, Peragis, Garnet und Vehanti mit hoher bis mittlerer Anfälligkeit, Stamm 73 (368/20 × Fürst Hatzfeld), ein Stamm, der bereits von Knorr (23) als sehr widerstandsfähig festgestellt wurde.

Diese beiden Testsortimente vermochten im großen und ganzen den Fragenkomplex über die Aggressivität der Herkünfte und die selektionierende Wirkung der Wirtssorte zu beantworten (Roemer-Bartholly, 31). Die Herkünfte Cosele, Breslau und Halle riefen nach einer vierjährigen Vermehrung auf den resistenten Hohenheimer 77 und Heils Dickkopf starken Befall bei Stamm 73 hervor, die wenig aggressive Herkunft Lyngby nur schwachen Befall. Bei einer Vermehrung der vier Herkünfte auf Panzer rief Cosele mittleren, Breslau und Halle schwachen und Lyngby keinen Befall auf Stamm 73 hervor. Dieses bedeutet, daß Cosele viele, Breslau und Halle weniger und Lyngby kaum aggressive Linien besitzt. Ridit, eine Kreuzung zwischen den beiden sehr widerstandsfähigen Sorten Turkey und Florence, wurde von Herkunft Breslau höher befallen als von Herkunft Cosele (Reichert, 28).

Da bei einer Massensporeninfektion, wie sie Roemer und Bartholly vornahmen, in Folge der Verschiedenartigkeit in der Aggressivität der Einzelsporlinien die bei der Keimung der Spore eintretenden Geschlechtsvorgänge das Bild zu stark verändern, erwies es sich als notwendig, die Herkünfte auf dem Testsortiment in Einzelspore

Tabelle 10.

## Infektionsversuch zur Bestimmung der Aggressivität

in verschiedenen Kombinationen haploider Linien von *Tilletia tritici* (Freiland).  
Winterweizen.

Nummer	Kombination	Befalls-Prozente						
		Heils Dickkopf	Hohenheim 77	Ridit	Martin	Red Hussar	White Odessa	Panzer III
45	T 23—17—5 × 17—14 .	2,3	1,1	0,0	0,0	15,8	10,2	43,0
54	T 23—21—5 × 21—8 .	2,3	3,9	0,0	1,2	1,2	50,2	9,6
67	T 23—21—4 × 21—6 .	0,9	1,1	0,0	0,0	0,0	15,1	32,2
B 19	T 8—18—2 × 23—1 .	—	5,4	2,6	—	—	—	88,8
S 76	T 8—17—3 × 23—22—1	—	1,2	2,3	3,1	1,1	—	51,4
S 116	T 23—21—3 × 22—1 .	—	—	0,0	0,0	1,2	8,2	34,2
S 131	T 23—14—7 × 21—4 .	—	—	1,4	0,0	11,4	9,2	36,8
S 187	T 8—23—1 × 23—21—8	—	0,0	0,0	0,0	0,8	7,8	34,5

und Sporidie auseinander zu ziehen (Nicolaisen, 24, bei *Ustilago avenae*). In den Tabellen 10, 11 und 12 sind die Ergebnisse von Versuchen dargestellt, die diesen Fragen näher treten sollen.

Tabelle 11.

**Infektionsversuch zur Bestimmung der Aggressivität in verschiedenen Kombinationen haploider Linien von *Tilletia tritici* (Freiland). Sommerweizen.**

Nummer	Kombination	Befalls-Prozente					
		Vehanti	Garnet	Hohenheim 25 f.	Peragis	Stamm 73	Strubes r. Schl.
45	T 23—17—5 × 17—14 . . .	46,5	79,6	85,0	94,7	2,7	51,3
54	T 23—21—5 × 21—8 . . .	—	25,3	—	89,2	0,0	—
67	T 23—21—4 × 21—6 . . .	—	88,0	73,8	92,5	2,8	88,3
S 131	T 23—14—7 × 21—4 . . .	—	—	—	61,1	5,7	—
S 187	T 8—23—1 × 23—21—8 . .	—	—	—	50,8	0,0	—

Tabelle 12.

**Infektionsversuch zur Bestimmung der Aggressivität in verschiedenen Kombinationen haploider Linien von *Tilletia tritici* (Gewächshaus). Sommerweizen.**

Nummer	Kombination	Befalls-Prozente					
		Vehanti	Garnet	Hohenheim 25 f.	Peragis	Stamm 73	Strubes r. Schl.
45	T 23—17—5 × 17—14 . . .	64,6	82,2	79,2	60,8	8,0	60,0
54	T 23—21—5 × 21—8 . . .	90,5	85,2	76,6	88,2	8,1	60,6
67	T 23—21—4 × 21—6 . . .	83,5	78,2	86,5	72,7	11,8	64,4
S 131	T 23—14—7 × 21—4 . . .	—	87,6	90,3	87,2	10,4	73,0
S 187	T 8—23—1 × T 23—21—8 .	—	82,6	84,2	(50,0)	2,9	30,0
S 76	T 8—17—3 × T 23—22—1 .	—	67,2	80,0	45,7	0,0	75,0
364 <sub>34</sub>	TS 76—19—7 × 19—9 . . .	67,5	66,7	64,0	41,7	0,0	51,2
349 <sub>34</sub>	TS 76—19—2 × { 19—6 . . .	—	76,6	—	53,8	2,5	30,9
354 <sub>34</sub>	TS 76—19—2 × { 19—11 . .	—	78,2	—	26,3	0,0	34,3

In diesen drei Versuchen wurde das Winterweizen- und das Sommerweizensortiment in der eben geschilderten Zusammensetzung mit Sporenmaterial verschiedener Kombinationen infiziert. Die beiden ersten Versuche wurden im Freiland durchgeführt, und zwar einmal auf dem Winter- und ein anderes Mal auf dem Sommerweizentestsortiment. Der dritte Versuch wurde auf dem gleichen Sommerweizentestsortiment im Gewächshaus durchgeführt. Bei diesem Versuch sollte gleichzeitig geprüft werden, ob bei Infektion mit gleichem Sporenmaterial die Testsortimente im Gewächshaus die gleichen Befallsergebnisse zeigen wie im Freiland. Die

zur Infektion benutzten Kombinationen stammen vornehmlich von T 23 (Herkunft Lyngby), in der nach Roemer-Bartholly kaum aggressive Linien anzunehmen sind. Eine Kombination stammte von T 8 (der aggressiven Herkunft Breslau) und zwei von Kreuzungen zwischen T 8 und T 23. Da nicht viel Infektionsmaterial zur Verfügung stand, konnten nicht immer alle Sorten infiziert werden. Das Saatgut wurde auch hier — wie bei anderen Versuchen — vorher mit 1-prozentiger Kupfervitriollösung gebeizt.

Wenn wir in der Übersicht 10 das Verhalten von Panzer näher betrachten, verhält sich am aggressivsten B 19, eine Kombination innerhalb der Herkunft Breslau. Am wenigsten aggressiv sind die Kombinationen innerhalb der Herkunft Lyngby. Von den beiden Kombinationen zwischen Lyngby und Breslau nimmt TS 76 eine Mittelstellung ein, während S 187 ebenso schwach aggressiv ist wie die schwächsten Kombinationen innerhalb der Gruppe Lyngby. Man könnte aus diesem Versuch auf eine intermediäre bzw. rezessive Vererbung der Aggressivität gegenüber Panzer schließen. Die Verhältnisse auf dem Sommerweizentestsortiment liegen nicht so eindeutig. Ganz allgemein ist zu sagen, daß die Befallshöhe von Peragis im Gewächshaus nicht so hoch ist wie bei der Anzucht im Freiland; während er im Felde die anfälligste Sorte des Testsortimentes darstellt, rangiert er bei den Gewächshausversuchen hinter Hohenheimer 25 f und Garnet an dritter Stelle. Die Befallshöhe ist bei den meisten Sorten, auch beim Sommerweizen, für die Kombinationen zwischen den beiden Herkünften Breslau und Lyngby am geringsten. Da aber wegen des Fehlens von Kombinationen innerhalb der Herkunft Breslau keine Vergleichsmöglichkeiten bestehen und auch das Bild der Kombinationen innerhalb der Herkunft Lyngby in bezug auf Aggressivität wenig einheitlich ist, können hier nicht die gleichen Schlüsse wie beim Winterweizen gezogen werden. Es scheint, daß die Vererbung der Aggressivität sowohl durch die betreffende Kombination der Linie des Pilzes als auch der betreffenden Sorte der Wirtspflanze beeinflußt wird. (Nicolaisen 24).

Für das Studium der Vererbung des Wuchsverhaltens monosporidialer Linien auf künstlichem Nährboden war die Feststellung im zweiten Abschnitt sehr wesentlich, die eine Konstanz der Wuchstypen von Haplonten als erwiesen ansah. Sehr eingehend hat Dickinson (6) schon 1928 über die Vererbung von Kulturcharakteren bei *Ustilago levis* berichtet, dann Hanna (16), Stakman, Christensen, Eide und Peturson (39) bei *Ustilago zeae* und Holton (18) bei *Ustilago avenae*. Dickinson fand, daß Geschlecht und Größe der Kultur auf je einem Faktorenpaar beruhte. Die Farbe der Kultur ging auf zwei Faktoren zurück; mehr als zwei Faktoren mußten für die Wuchsform verantwortlich gemacht werden. Im allgemeinen mendelte jede Eigenschaft für sich. Hanna stellte bei *Ustilago zeae* fest, daß die Reduktionsteilung in bezug auf die Kolonieform

Tabelle 13.

## Wuchsverhalten von Monosporidialkulturen

von *Tilletia tritici* aus drei aufeinander folgenden Generationen einer Einzelsporonachkommenschaft.

Kultur	Größe cm	Farbe	Mitte der Kultur						Rand der Kultur	Bemerkung
			Glatte	Ge- faltete	Auf- reiß- ge- wölbt	Tröpfen	Brüche	Fräcke	Abgegrenzt von Mitte außen	
1. Generation T 23 22—1 . . .	3	weiß	++	+					+++	
T 8 17—3 . . .	3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	weiß		+	+++	+++			+++	1/4 Durch Tropfen Mitte weiß-gelb
2. Generation TS 76 19—8 . . .	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	weiß		++	+				++	
TS 76—19 Gruppe 1	6 11 13	weiß		+	+++	+++			+	Durch Tropfen Mitte gelb
3. Generation T 364—4 2 . . .	3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	weiß		+					+	Kein Rand
Gruppe 2	9									
T 364—4 4 . . .	7	weiß							+++	3/4 Durch Tropfen Mitte gelb
Gruppe 3	11									
T 364—4 1 . . .	5	weiß							++	Übergang vom Rand zur Mitte gefaltet
Gruppe 4	6 12								++	1 Dicke farblose Tropfen, Mitte weiß
3. Generation T 349 1—3 . . .	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	weiß		+++	+++	+++	+++	+++	+++	Kein Rand
T 349—1—6 . . .	3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	weiß	++							
5 T 349—1 Gruppe 5	1 2 10								++	1
T 349—1 Gruppe 6	4 7 8 11	grauweiß							++	1/2

im ersten Teilungsschritt, bezüglich des Geschlechts jedoch im zweiten erfolgte. Bauch beobachtete *Ustilago hordei* auf Geschlecht, Kolonieform und Farbe; er fand dabei, daß bei vier Sporen vier verschiedene Aufspaltungen erfolgten; einmal Kolonieform, Farbe und Geschlecht im ersten Teilungsschritt, dann Kolonieform und Farbe im ersten und Geschlecht im zweiten Teilungsschritt usw. Holton fand bei einem Versuch, in dem er die an der gleichen Promyzelzelle nacheinander abgeschnürten Sporidien untersuchte, daß sämtliche Sporidien wohl gleichen Geschlechts waren, aber zum Teil von verschiedener Wuchsform. Auch dies deutet darauf hin, daß die Reduktionsteilung in bezug auf verschiedene Kultur-Eigenschaften auf verschiedene Teilungsschritte verteilt werden kann. Die Abhängigkeit der Reduktionsteilung von gewissen Umweltbedingungen wurden von Hüttig (19) und Dickinson (6) eingehend bearbeitet.

Bei *Tilletia* gestalten sich diese Dinge noch viel schwieriger, da nicht alle Sporidien je Spore erhalten wurden. Die Tabelle 13 zeigt die Auswertung eines Versuchs in bezug auf die Vererbung von Wuchs-eigen-schaften monosporidialer Linien von *Tilletia tritici*. Sie zeigt das Wuchsverhalten von monosporidialen Linien einer Generationenfolge, die sich über drei Generationen erstreckt. Die in der zweiten Rubrik genannte Spore TS 76—19, von der vier Sporidien untersucht wurden, entstammt der Kombination der in der ersten Rubrik verzeichneten Linien T 23—22—1 und T 8—17—3. In der dritten Rubrik ist die Spore 364—4 mit zehn Sporidien aufgeführt, die aus einer Kreuzung der Sporidien TS 76—19—7 × 19—9 stammt. Die vierte Rubrik endlich enthält neun Sporidien der Spore 349—1, die der Kreuzung TS 76—19—2 × 19—6 entnommen sind. Die Sporidien, die die gleiche Bonitierung des Wuchsbildes zeigten, wurden in Gruppen zusammengefaßt. Es ist unmöglich, die photographische Aufnahme von sämtlichen Kulturen zu bringen; doch soll die Abb. 8 die Faltung und Aufwölbung der Mitte der Kulturen zeigen, die ein charakteristisches Merkmal für dieses Vererbungsmaterial darstellen.

Im großen und ganzen ist zu sagen, daß mit dem Vorrücken in der Generationsfolge eine deutliche Vereinheitlichung des Wuchsbildes innerhalb der Sporennachkommenschaften verbunden ist. Bei den Sporen T 8—17 und T 23—22 waren nach früheren Bonitierungen sämtliche Sporidien verschieden. Bei TS 76—19, also in der zweiten Generation, konnten bereits kleine Gruppen gebildet werden. Bei den Nachkommen der Spore 364 bzw. 349, also in der dritten Generation, sind bereits größere Gruppen vorhanden. Diese Gruppenbildung deutet darauf hin, daß durch fortdauernde Kernzusammentritte innerhalb einer Spornachkommenschaft von Generation zu Generation eine größere Einheitlichkeit des Wuchsbildes innerhalb der untersuchten Linien festzustellen ist.

Es liegt darin eine Parallele zu der Erscheinung bei fremdbefruchtenden höheren Pflanzen, bei denen durch fortgesetzte erzwungene Selbst- bzw. Geschwisterbefruchtung ein Mittel gegeben ist, aus einem heterozygoten Material Formen von größerer Einheitlichkeit zu entwickeln.

Weiterhin ist der Tabelle zu entnehmen, daß eine Vererbung des Wuchsbildes stattfindet. 349—1—3 zeigt das gleiche Wuchsbild wie TS 76—19—8. Gruppe 2 unterschied sich nur in der Randbildung von Gruppe 1.



a) Faltung



b) Aufwölbung

Abb. 8.  
Wuchsformen der Kulturmitte bei zwei Haplonten von *Tilletia tritici*.

Die aufgewölbte Mitte der Kultur war die gleiche wie bei der Gruppe 1 und ebenfalls wie die der zwei Generationen zurückliegenden Linie T 8—17—3. Gruppe 3 war von Gruppe 4 nur in der Faltung verschieden. Die Faltung scheint von T 8—17—3 und T 23—22—1 herzurühren und sich bei der Kombination zu verstärken. Bei 349 war Gruppe 6 auffallend anders als alle anderen Gruppen vorher, besonders in der grauweißen Farbe.

Die vorliegende Studie über die Vererbung der Aggressivität und des Wuchsverhaltens monosporidialer Linien von *Tilletia tritici* sind die ersten Untersuchungen dieser Art überhaupt, da es bisher bei *Tilletia* nie gelungen ist, eine größere Anzahl Sporidien und Sporen zu isolieren und heranzuziehen. Wenn diese Untersuchungen auch wegen der vielfach ausgeführten Schwierigkeiten nur in begrenztem Umfange durchgeführt werden konnten, so scheinen doch folgende Feststellungen gesichert:

1. Die Vererbung der Aggressivität des Pilzes ist anscheinend sowohl in den einzelnen Kombinationen der Pilzlinien als auch auf den einzelnen Sorten der Wirtspflanze verschieden. Der von zwei verschiedenen Kombinationen zwischen Linien der Herkünfte Breslau und Lyngby auf

der Sorte Panzer erzielte Befall läßt auf intermediäre bzw. rezessive Vererbung der stärkeren Aggressivität schließen.

2. Die Vererbung gewisser Wuchsmerkmale wurde nachgewiesen. Über drei Generationen sich erstreckende fortgesetzte Kernzusammensetze innerhalb einer Sporennachkommenschaft führten zu einer deutlichen Vereinheitlichung der Haplonten in bezug auf Wuchsverhalten.

### Zusammenfassung.

1. Die Untersuchungen über Keimung und Sporidienbildung waren weniger auf die Erfassung der ursächlichen Faktoren abgestellt, sondern verfolgten das praktische Ziel, möglichst schnell und sicher Sporidienmaterial für die Infektionsversuche zu erhalten. Für diesen Zweck erwies es sich am günstigsten, das Sporenmaterial zunächst bei Zimmertemperatur und künstlicher Belichtung ankeimen zu lassen. Ein dann eintretender Temperaturwechsel von 20° C auf 10 bis 15° C war notwendig, um eine gute und schnelle Sporidienbildung zu erreichen.

2. Die Technik der Isolierung und Anzucht wurde soweit verbessert, daß es zum ersten Male gelang, eine große Anzahl von Sporidien je Einzelspore zu isolieren und heranzuziehen.

3. An einem Material von 275 monosporidialen Linien konnte das Wuchsverhalten auf künstlichen Nährböden studiert werden. Vorherrschend war eine starke Heterozygotie in bezug auf die einzelnen Wuchsmerkmale. Aus dem gesamten Material war nur eine Spore hinsichtlich der Wuchsform homozygot veranlagt.

4. Es wird ein Weg gezeigt, durch geeignete Handhabung der Kulturen, in erster Linie besondere Berücksichtigung des Faktors Feuchtigkeit, innerhalb kürzester Zeit große Mengen Infektionsmaterial heranzuziehen. Für die Durchführung der Myzelinfektion erwies sich eine in Anlehnung an Flor durchgeführte Koleoptilinfektionsmethode am sichersten. Eine zweite vom Verfasser selbst entwickelte Methode bedarf noch weiterer Verbesserungen.

5. Die Prüfung der Sexualitätsverhältnisse ergab Bipolarität innerhalb von Einzelsporenachkommenschaften. Kombinationen von haploiden Linien verschiedener Sporen und verschiedener Herkünfte deuteten auf kompliziertere Verhältnisse.

6. Untersuchungen über die Vererbung der Aggressivität erbrachten in einem Falle intermediäre, im anderen rezessive Vererbung der stärkeren Aggressivität.

7. Die Prüfung des Wuchsverhaltens in einer Folge von drei Generationen gestattete wohl den Nachweis der Tatsache der Vererbung, nicht aber eine Analyse des Erbganges.

Nach Fertigstellung der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. Th. Roemer für die Zielsetzung und Anregung des Themas, das rege Interesse an dem Fortschreiten der Arbeit und die finanzielle Unterstützung derselben aufrichtig danken.

Besonderen Dank schulde ich seinem Assistenten, Herrn Dr. Isenbeck. Durch seinen Rat, der mir jederzeit zur Verfügung stand, und seine tatkräftige Unterstützung ist es gelungen, so mancher Schwierigkeiten Herr zu werden.

Weiterhin danke ich Herrn Diplomlandwirt Pech für seine Bereitwilligkeit, die photographische Aufnahme der Kulturen vorzunehmen.

Zum Schluß sei allen anderen gedankt, die an der Durchführung der Arbeit irgendwie beteiligt waren.

### Literaturverzeichnis.

- 1 Bauch, R. Die genetischen Grundlagen der multipolaren Sexualität der Pilze. „Der Züchter“, **2**, 174—182; 1930 A.
- 2 Bodine, E. W. and Durrell: Inoculation of wheat with *Tilletia levis* (Kühn). Phytopath. Vol. 20, 1930, 663—668.
- 3 Boß, G. Beiträge zur Zytologie der Ustilagineen. Planta, **3**, 597—627, 1927.
- 4 Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie. Die Brandpilze, II. 1872—1912.
- 5 Caspar, R. Über den Einfluß äußerer Faktoren auf den Steinbrandbefall des Weizens. Kühn-Archiv, **12**, 1926, 205—256.
- 6 Dickinson. Experiments on the physiology and genetic of the smut fungi. Cultural characters. Proc. Roy. Soc., B. Vol. 108, 1931.
- 7 Faris, J. H. Factors influencing the infection of wheat by *Tilletia tritici* and *Tilletia levis*. Mycologia, **16**, 1924, 259—282.
- 8 Feucht, W. Die Wirkung des Steinbrandes *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter und *Tilletia foetens* (Berk. et Curt.) Tulasne auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in ihrer Abhängigkeit von äußerem Faktoren. Phytopathologische Zeitschrift, **4**, H. 3, 1932.
- 9 Flor, H. H. Heterothallism and Hybridization in *Tilletia tritici* and *Tilletia levis*. Jour. of Agr. Res., **44**, 49—58, 1932.
- 10 Flor, H. H. The production of bunt chlamydospores in the vegetative tissue of the wheat plant. Phytopath., **22**, 661—664, 1932.
- 11 Gaines, E. F. New physiologic forms of *Tilletia levis* and *tritici*. Phytopath., **18**, 179—188, 1928.
- 12 Gibbs, W. Untersuchungen über die Brandanfälligkeit beim Weizen. Diss. Göttingen 1924.
- 13 Giesecke, A. Untersuchungen über das Verhalten von Winterweizen bei künstlicher Infektion mit Steinbrand (*Tilletia tritici*). Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, **14**, 311, 1929.
- 14 Hahne, J. Untersuchungen über die Keimungsbedingungen von Tilletiasporen. Kühn-Archiv, **9**, 1925, 157—263.
- 15 Hanna, W. F. A simple apparatus for isolating single spores. Phytopath. vol. 18, 1928, 1017—21.
- 16 Hanna, W. F. Studies in the physiology and cytology of *Ustilago zeae*. Phytopath., **19**, 1929, 415—442.

- 17 Hartmann, M. Untersuchungen über relative Sexualität. Biologisches Zentralblatt 1925, 449—467.
- 18 Holton, C. L. Studies in the Genetics and the Cytology of *Ustilago avenae* and *Ustilago levis*. Techn. Bull. **37**, 1932.
- 19 Hütting. Über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung und Geschlechtsverteilung bei Brandpilzen. Zeitschrift für Botanik, **24**, 1930/31, 529—577.
- 20 Isenbeck, K. Untersuchungen über *Helminthosporium gramineum* Rabh. im Rahmen der Immunitätszüchtung. Phytopathologische Zeitschrift **2**, 1930, H. 5.
- 21 Kienholz and Heald, Cultural strains of the stinking smut of wheat. Phytopathology Vol. 20, 1930, 495—512.
- 22 Kniep, H. Sexualität der niederen Pflanzen. Jena 1928, 544 S.
- 23 Knorr, D. Untersuchung über das Verhalten von Sommerweizensorten und Bastardierungen bei künstlicher Infektion mit Steinbrand (*Tilletia tritici*), Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, **14**, 1929, 261.
- 24 Nicolaisen, W. Die Grundlagen der Immunitätszüchtung gegen *Ustilago avenae*. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, **19**, 1934, H. 1.
- 25 Paravicini, E. Untersuchungen über das Verhalten der Zellkerne bei der Fortpflanzung der Brandpilze. Ann. Mycol., **15**, 57—96, 1917.
- 26 Rabien, H. Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt **15**, 297—355, 1927.
- 27 Rawitscher, F. Beiträge zur Kenntnis der Ustilagineen. Zeitschrift für Botanik **14**, 273—96, 1922.
- 28 Reichert, J. A. The susceptibility of American wheat varieties resistant to *Tilletia tritici*. Phytopath. **20**, 973—980, 1930.
- 29 Roemer, Th. Gibt es biologische Typen von Steinbrand (*Tilletia tritici*) des Weizens? Kühn-Archiv, **19**, 1928, 1—10.
- 30 Roemer, Th. Immunitätszüchtung, Flora **28**, N. F., 145—196, 1933.
- 31 Roemer-Bartholly. Die Aggressivität der verschiedenen Steinbrandherküünfte (*Tilletia tritici* [Bjerk] Winter) und ihre Veränderung durch die Wirtssorte. Phytopathologische Zeitschrift, **6**, 469—506, 1933.
- 32 Rodenhiser, H. A. Physiologic specialization in some cereal smuts. Phytopath. **18**, 955—1003, 1928.
- 33 Rodenhiser and Stakman. Physiologic specialization in *Tilletia levis* and *tritici*. Phytopath. **17**, 1927, 247—53.
- 34 Sartoris, G. B. Studies in the live history and physiology of certain smuts. Amer. Journ. of Bot. **11**, 617—647, 1924.
- 35 Sleumer, G. Über Sexualität und Cytologie von *Ustilago ziae* (Bekm). Unger. Zeitschrift für Botanik, **25**, 209—263, 1931/32.
- 36 Smith, W. K. The effect of different temperatures on the reaction of hope wheat to bunt. Phytopath., **22**, 615—627, 1932.
- 37 Smith, W. K. Reaction of Martin wheat to three physiologic forms of *Tilletia tritici*. Phytopath., **22**, 847—850, 1932.
- 38 Stakman, E. C. and Christensen, J. J. Heterothallism in *Ustilago ziae*. Phytopath. **17**, 827—834, 1927.
- 39 Stakman, E. C., Christensen, J. J., Eide, C. J. and Peturson, B. Mutation and Hybridization in *Ustilago ziae*. I. Mutation. II. Hybridization. Minn. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull. 65, 1929.
- 40 Zillig, H. Ustilagineen. In Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. III 2. Teil. 5. Aufl. Berlin 1932, 226—255.





# Die Bedeutung der Wasseraufnahme des Weizenkorns, insbesondere des Weizenembryos, für Wirkung und Wirkungs- weise der Warmwassertauch- und -benetzungsbeize.

Von

G. Gaßner und H. Kirchhoff.

Inhalt: I. Bisherige Untersuchungen und Fragestellung. — II. Versuchsdurchführung. — III. Die Wasseraufnahme des Weizenkorns und seiner Teile bei Anwendung der Benetzungsbeize. — IV. Die Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf das Keimverhalten gebeizter Körner und die Beziehungen zwischen Keimschäden und Wassergehalt des Embryos. — V. Die Bedeutung des Wassergehaltes des Embryos für die Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf den Flugbrandbefall (*Ustilago tritici*). — VI. Beiztherapeutische Gesichtspunkte für die Gestaltung der Vorquellung in der Warmbenetzungsbeize. — VII. Die Wasseraufnahme des Weizenkorns und ihre Bedeutung für die Wirkung der Warmwassertauchbeize. — VIII. Hauptergebnisse. — IX. Schriftenverzeichnis.

## I. Bisherige Untersuchungen und Fragestellung.

Durch alle Untersuchungen, die sich mit der Wirkung der Warmwasserbeize auf den Flugbrand befassen, zieht sich wie ein roter Faden die Frage, welche Bedeutung die Wasseraufnahme des Kornes während der sogenannten Vorquellung des Getreides, die der eigentlichen Beizbehandlung meist vorausgeschickt wird, für den Erfolg der Beizung hat. Wir finden diese Frage sowohl in den grundlegenden Arbeiten von Appel und Riehm (1) wie aber auch schon in den gleichzeitig durchgeföhrten Untersuchungen von Störmer (10 u. a. O.) und anderen Autoren aufgeworfen. Appel und Riehm erblicken die Wirkung der Vorquellung in der „Erweckung des ruhenden Myzels“ (S. 381) und suchen den offensichtlichen Zusammenhang zwischen Temperatur des Vorquellwassers und Beizwirkung so zu erklären, daß das hohe, bei etwa 27° C liegende Keimungsoptimum der Sporen von *Ustilago nuda* und *Ustilago tritici* möglicherweise auch für das „Auskeimen des Dauermyzels“ vorliegt: sie kommen zu dem Schluß, „daß die Abtötung des Flugbrandmyzels bei Anwendung kürzerer Vorquellzeit (4 Stunden) nur erfolgt, wenn die Temperatur des Vorquellwassers nahe dem Keimungsoptimum der Flugbrandsporen und wohl auch dem des Dauermyzels liegt.“ (S. 377, 378). Eine solche Deutung der Wirkung der Vorquellung wird von Störmer (10) im Hinblick darauf abgelehnt, daß eine Vorquellung bei Temperaturen von 35 bis 40°, die für den Pilz überoptimal sind, günstiger wirkt als eine solche bei geringeren Wärmegraden.

Diese älteren Untersuchungen mußten deshalb die aufgeworfene Frage unentschieden lassen, weil die Wasseraufnahme während der Vorquellung

ausschließlich durch die Bestimmung des Wassergehaltes der gesamten Körner kontrolliert wurde. Durch die Arbeiten von Schroeder (9) und anderer Autoren wissen wir nun aber seit längerem, daß die Wasser- aufnahme quellender Getreidekörner in eigenartiger Weise am Embryoende lokalisiert ist; es muß sich also während der Quellung ein Wassergefälle vom Embryo nach dem volumetrisch weit mächtigeren Endosperm bilden, so daß die Bestimmung des Wassergehaltes der Gesamtkörner unmöglich ein treffendes Bild der Wasserverhältnisse derjenigen Kornteile geben kann, in denen das Flugbrandmyzel liegt. Auf die Feststellung des Wassergehaltes dieser Teile muß es aber ausschließlich oder überwiegend ankommen.

Über unsere ersten Versuche, die Beizwirkung höherer Temperaturen auf vorgequollenes Getreide mit dem Quellungszustand des Embryos in Beziehung zu bringen, haben wir bereits in unserer letzten Mitteilung über die Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize kurz berichtet (7). Danach steigt der Wassergehalt des Embryos nach Benetzung des Saatgutes zunächst stark an, um dann infolge des Ausbleibens weiterer Wasseraufzehrung und der allmählichen Ableitung des aufgenommenen Wassers in das Endosperm wieder abzufallen. Die Wirkung einer 1-stündigen Beizung bei 55° C auf das Keimverhalten des gebeizten Saatgutes zeigt sich nun innerhalb weiter Grenzen dem Wassergehalt des Embryos umgekehrt proportional; die Versuchsergebnisse deuten gleichzeitig weiter darauf hin, daß die Wirkung der hohen Beiztemperatur auf die Unterdrückung des Flugbrandbefalls der Schädigungswirkung auf die Körner nicht genau parallel verläuft, da sie bei wieder abnehmendem Wassergehalt des Embryos weiter ansteigt. Längere Vorquellung bedeutet also „gleichzeitig bessere Wirkung auf den Flugbrand und Verringerung der Keimschäden.“

Die soeben erwähnten früheren Versuche sind nun noch in mehrfacher Hinsicht unvollständig. Sie sind zunächst nur mit einer Vorquelltemperatur durchgeführt, gestatten also noch kein endgültiges Urteil über die Allgemeingültigkeit der gefundenen Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryos und Beizwirkung. Sie sind weiter auch noch insoweit ergänzungsbedürftig, als die Wirkung der Beizung auf die Flugbrandunterdrückung nur bis zu einer Vorquellungsdauer von vier Stunden geprüft ist, während für die Feststellung der Keimschäden Vorquelldauern bis zu 24 Stunden zur Anwendung gekommen waren.

Es handelte sich also in den folgenden Untersuchungen darum, bei möglichst umfassender Variierung der Vorquelldauer und gleichzeitiger Abänderung der Temperatur während der Vorquellung die Wirkung einer im Anschluß an die Vorquellung in gleicher Weise zur Anwendung kommenden Wärmebehandlung auf Keimverhalten des Saatgutes und Flugbrandbefall im einzelnen zu verfolgen. Die gleichzeitige Feststellung der Wasserverhältnisse des Embryos mußte eine eindeutige Beantwortung der Frage gestatten, ob stets und unter allen Umständen die Beizwirkung

dem Wassergehalt des Embryos parallel geht, oder ob wir außer mit den temperaturbedingten Änderungen der Wasseraufnahme auch noch mit einer besonderen Temperaturwirkung des Quellwassers auf das nach Appel und Riehm in seiner Entwicklung an eine Optimaltemperatur von etwa 27° angepaßte Flugbrandmyzel zu rechnen haben.

Die Prüfung der vorstehenden Frage diente natürlich auch gleichzeitig zur Kontrolle der für die Bekämpfung des Flugbrandes (*Ustilago tritici*) in Betracht kommenden Beizverfahren und ihrer therapeutischen Grundlagen. Es gilt das vor allem für die in Ausarbeitung begriffene Warmbenetzungsbeize; jedoch erscheint auch bei dem bisherigen Warmwasserverfahren eine nochmalige Klärung der Grundlagen dieses Verfahrens, vor allem bezüglich der Wirkung der Vorquellung und der Vorquelltemperaturen nicht überflüssig.

Der überwiegende Teil der folgenden Versuche behandelt die Warmbenetzungsbeize. Wir haben diese deshalb in den Vordergrund gestellt, weil wir hier die Wasserverhältnisse des Embryos: Anstieg während des ersten Teiles der Quellung und daran anschließenden Abfall des Wassergehaltes des Embryos als Folge der Abwanderung von Wasser in das Endosperm, ganz anders variieren können als bei der üblichen Tauchbeize, wo das ständig nachströmende Wasser den Wassergehalt nur in einer einfachen, gleichsinnigen Kurve beeinflußt. Auf die Verhältnisse der Warmwassertauchbeize ist deshalb erst in dem letzten Hauptabschnitt dieser Arbeit kurz eingegangen.

## II. Versuchsdurchführung.

Die Versuchsdurchführung ist bereits in unseren früheren Veröffentlichungen wiedergegeben. Das wichtigste sei im folgenden nochmals kurz und übersichtlich zusammengestellt:

### 1. Saatgut.

Für die Feststellung der Beizwirkung auf den Flugbrandbefall: Santa Fé-Weizen, Nachbau Griesmarode. Der durchschnittliche Flugbrandbefall dieses Weizens (unbehandelte Kontrollen) betrug im Versuchsjahr 1934 20,7%.

Für Bestimmungen der Keim- und Triebkraft sowie für die Wasserbestimmungen außer Santa Fé-Weizen vor allem Salzmünder Standard: beide Weizen, insbesondere Santa Fé haben ein längliches Korn, was für ein exaktes Trennen von Embryo und Endosperm und damit für die Genauigkeit der Wasserbestimmungen von Vorteil ist.

### 2. Warmbenetzungsbeize.

Saatgut in geschlossenen, während der ganzen Versuchsdauer rotierenden Trommeln mit geringen Flüssigkeitsmengen (5 bis 6 Liter je Zentner Saatgut) beschickt.

Vorquellung bei konstanten Temperaturen; bei tiefen Vorquelltemperaturen Aufstellung der gesamten Apparatur in entsprechend temperierten Kühlräumen. Bei Temperaturen von 20° und mehr Eintauchen der rotierenden Trommeln in Wasserbäder der betreffenden Temperatur.

Beizung durch Überführen der rotierenden Trommeln in das Warmwasser der Beiztemperatur.

### 3. Warmwassertauchbeize.

Vorquellen in Wasser verschiedener Temperatur.

Anschließend 10 Minuten langes Beizen in Wasser hoher Temperatur und Abschrecken in kaltem Wasser.

### 4. Feststellung des Wassergehaltes am Schluß der Vorquellung.

Je 20 Weizenkörner schnell und vorsichtig abgetrocknet und darauf sofort hinter dem Embryo in Endosperm- und Embryoteil zerschnitten. Abtrocknen und Zerschneiden erfolgt bei Vorquelltemperaturen von  $0^\circ$  und  $10^\circ$  bei diesen Temperaturen, bei Vorquelltemperaturen von  $20^\circ$  und mehr bei Zimmertemperatur.

Getrennte Feststellung des Gewichtes und Wassergehaltes von Endosperm und Embryo.

Außerdem zu Vergleichszwecken: Feststellung von Gewicht und Wassergehalt von 20 Körnern ohne Berücksichtigung der Trennung in Endosperm und Embryo.

Kontrollen: Feststellung von Gewicht und Wassergehalt von 20 unbehandelten Körnern.

Berechnung: Die Unterschiede des Wassergehaltes unbehandelter und behandelter Körner bzw. Kornteile geben die Wasseraufnahme während der Vorquellung an; alle Werte sind auf 100 g Trockensubstanz umgerechnet, also als Prozente der Trockensubstanz ausgedrückt, um einen unmittelbaren Vergleich zu ermöglichen.

### 5. Feststellung der Keimschäden.

a) Keimversuche auf Filterpapier. Feststellung der Keimprozente und der durchschnittlichen Keimgeschwindigkeit; hieraus Berechnung der Wertungszahl (Quotient  $\frac{\text{Keimprozente}}{\text{Keimdauer}}$  auf den gleich 100 gesetzten entsprechenden Quotienten der unbehandelten Kontrollen bezogen. Näheres siehe Gaßner, 3).

b) Triebkraftversuche in Sand; Keimverzögerung durch die Zeichen: — und —— (schwache und starke Keimverzögerung) wiedergegeben.

### 6. Feststellung der Beizwirkung auf den Flugbrandbefall.

Feldversuche in üblicher Methodik.

Aussaatmengen in jeder Versuchsreihe im allgemeinen  $2 \times 420$  Korn.

Feststellung der Brandprozente durch Auszählen kranker und gesunder Pflanzen.

## III. Die Wasseraufnahme des Weizenkorns und seiner Teile bei Anwendung der Benetzungsbeize.

Den Verlauf der Wasseraufnahme von Embryo und Endosperm haben wir bereits an früherer Stelle (7) an Hand einer graphischen Darstellung in den Grundzügen klargelegt. Wir können uns hier deshalb auf die tabellarische Wiedergabe eines Versuches beschränken, in dem die Versuchsdauer bis auf 32 Stunden ausgedehnt wurde.

Die Versuchstemperatur betrug  $20^\circ$ ; von der ausführlichen Wiedergabe der entsprechenden mit  $0^\circ$ ,  $10^\circ$  und  $30^\circ$  durchgeführten Versuche kann Abstand genommen werden, weil die Ergebnisse, abgesehen natürlich von entsprechenden zeitlichen Verschiebungen (siehe weiter unten), die gleichen Gesetzmäßigkeiten in den Veränderungen des Wassergehaltes von Embryo und Endosperm zeigen.

Die Wasseraufnahme des gesamten Korns hat in dem Versuch von Tabelle 1 bereits nach wenigen Stunden ihre maximale Höhe erreicht. Das Wasser verteilt sich zunächst sehr ungleichmäßig auf Embryo und

Tabelle 1.

**Wasseraufnahme des gesamten Weizenkorns und Wasseraufnahme von Embryo und Endosperm bei Anwendung der Benetzungsbeize.**

Temperatur: 20° C.

Benetzungsmenge: 6 Liter Wasser je Zentner Saatgut.

Dauer der „Quellung“ (Stunden nach Benetzung)	Wasseraufnahme (in Prozenten der Trockensubstanz)		
	Gesamtes Korn	Embryo	Endosperm
1/4	9,1	22,3	5,9
1/2	10,4	31,5	7,7
1	11,8	34,4	8,7
1 1/2	12,2	39,1	9,2
2	14,4	38,9	9,4
4	13,7	33,8	10,7
8	14,1	24,7	11,9
16	14,7	21,3	13,3
32	14,4	19,9	14,0

Endosperm. Die Wasseraufnahme des Embryos erreicht nach 1 1/2 bis 2 Stunden ihren höchsten Wert mit 39%, während die Wasseraufnahme des Endosperms zu dieser Zeit erst etwa 9% des Trockengewichtes beträgt. Hierbei ist noch zu berücksichtigen, daß dieser Wert zu einem bedeutenden Teil durch die Quellung der das Endosperm bedeckenden toten Außenschichten zustande kommt. Der weitere allmähliche Wasseranstieg des Endosperms erklärt sich zum ganz überwiegenden Teil dadurch, daß das vom Embryo aufgenommene Wasser in das Endosperm weitergeleitet wird. Jedoch liegt auch nach 32 stündiger Quellung noch kein volliger Ausgleich des Wassergehaltes von Endosperm und Embryo vor.

Die Versuchsergebnisse zeigen wieder eindeutig die überragende Rolle des Embryos bei der Wasseraufnahme. Da das aufgenommene Wasser in das Endosperm weitergeleitet wird, kommt es zu einer typischen Optimumkurve des Wassergehaltes im Embryo, die wir in grundsätzlich gleicher Weise bei allen Quellungstemperaturen wiederfinden.

In den im folgenden besprochenen Versuchen mit verschiedenen Quellungstemperaturen (1°, 10°, 20°, 30° und 55°) ist der Verlauf der Wasseraufnahme des Endosperms nicht weiter berücksichtigt, da er für die Beurteilung der Beizwirkung auf verschieden vorgequelltes Getreide ohne Bedeutung ist. Wir beschränken uns also im folgenden ausschließlich auf die Darlegung der Wasseraufnahme und Wasserverhältnisse des Embryos als des allein ausschlaggebenden Bestandteils des Kernes.

Die in Abbildung 1 wiedergegebene graphische Darstellung enthält den Verlauf der Wasseraufnahme und -abgabe des Embryos bei verschiedenen Quellungstemperaturen und bei gleichzeitiger weitgehender Variierung der Quellungszeiten des stets in gleicher Weise mit 6 Liter Flüssigkeit

je Zentner benetzten Saatgutes. Danach vollziehen sich Wasseraufnahme und -abgabe in folgender Weise:

1. Bei allen Quellungstemperaturen erreicht die Kurve der vom Embryo aufgenommenen Wassermenge nach einer je nach Temperatur verschiedenen Zeit ein Maximum, um dann wieder abzufallen.

2. Erhöhung der Temperatur bewirkt eine starke Beschleunigung sowohl der Wasseraufnahme als aber auch der Weiterleitung des vom Embryo aufgenommenen Wassers an das Endosperm. Dieser zweite Prozeß wird durch Temperaturerhöhung anscheinend<sup>1)</sup> stärker beschleunigt als

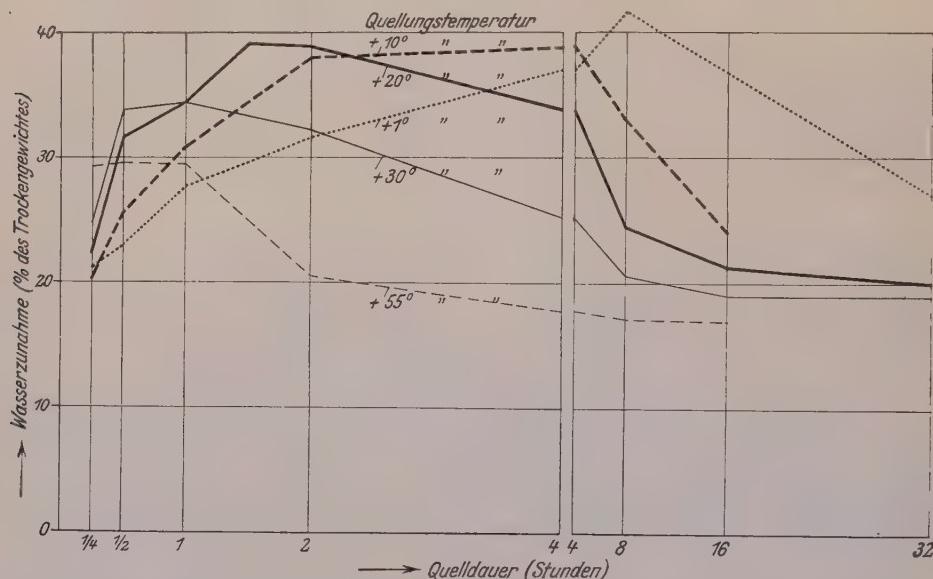


Abb. 1.

#### Wasserzunahme des Weizenembryos in Abhängigkeit von der Quellungstemperatur.

Saatgut: Salzmünder Standard-Weizen.

Benetzung: 6 Liter Wasser je Zentner.

die Wasseraufnahme, da die Höhe der absoluten Maxima der auf die Trockensubstanzeinheit bezogenen Mengen aufgenommenen Wassers bei hohen Quellungstemperaturen infolge der hier schnelleren Ableitung ins Endosperm deutlich unter derjenigen bei tiefen Quellungstemperaturen bleibt. (Bei 1°: 41,6; bei 10°: 38,7; bei 20°: 39,1; bei 30°: 34,3 und bei 55°: 29,6 g auf 100 g Trockensubstanz.)

3. Das bei den einzelnen Quellungstemperaturen vorliegende Maximum der Wasseraufnahme wird bei einer Temperatur von 1° nach 8, von 10° nach 4, von 20° nach 1½ bzw. 2, von 30° nach 1 Stunde erreicht, was einem Faktor  $Q_{10} = 2$  entspricht.

<sup>1)</sup> Die Möglichkeit, daß bei höheren Temperaturen die unmittelbare Wasseraufnahme des Endosperms aus den Außenschichten des Korns eine Änderung erfährt, bedarf noch der Prüfung.

#### IV. Die Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf das Keimverhalten gebeizter Körner und die Beziehungen zwischen Keimschäden und Wassergehalt des Embryos.

Bereits in unseren früheren Untersuchungen (7) haben wir uns kurz mit den Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryos und den durch eine bestimmte Wärmebehandlung ausgelösten Keimschäden befaßt und insbesondere zeigen können, daß der Rückgang der Keimschäden mit

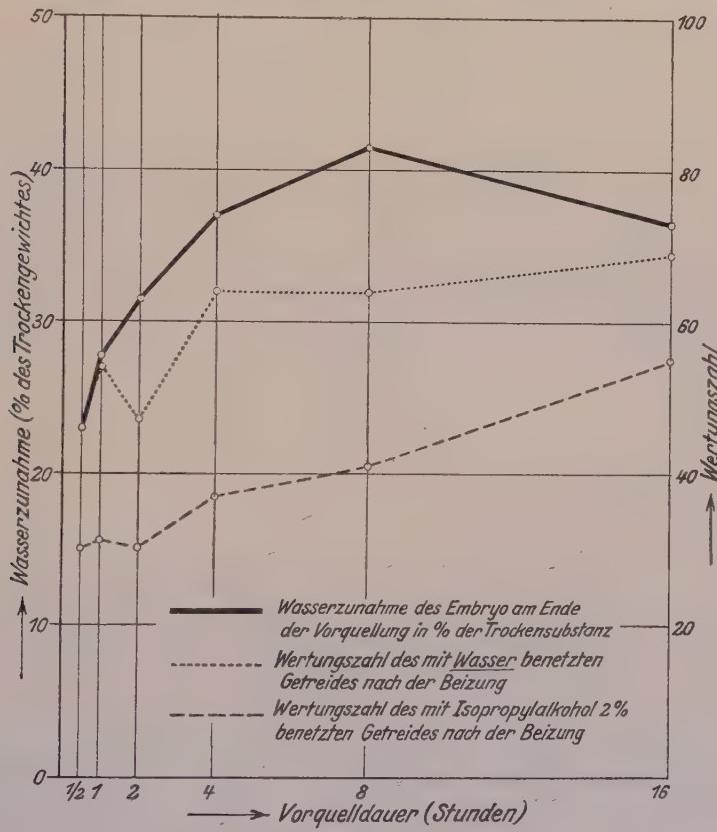


Abb. 2.

**Einfluß einer Vorquellung von + 1 °C auf Wasserzunahme des Embryo und Wirkung einer anschließenden einstündigen Beizung mit 55 °C auf das Keimverhalten (Wertungszahl).**

Benetzung: 6 Liter Wasser bzw. 2 %ige Isopropylalkohollösung je Zentner.

längerer Vorqueldauer eine Folge der Abwanderung von Wasser aus dem Embryo in das Endosperm ist. Diese älteren Versuche sind nur mit einer Vorquelltemperatur ( $20^{\circ}\text{C}$ ) durchgeführt und bedürfen deshalb noch einer Ergänzung durch Hinzuziehung weiterer Temperaturen; denn die Frage war ungeklärt geblieben, ob die Wirkung verschiedenartiger Vorquelltemperaturen sich ausschließlich auf dem Wege einer zeitlichen Ver-

schiebung der Wasseraufnahme und -abgabe des Embryos vollzieht. Auch bedürfen gewisse, allerdings nur scheinbare Unregelmäßigkeiten in den gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryos und Wirkung der Warmbenetzungsbeize noch einer Prüfung und näheren Besprechung.

Die Versuchsdurchführung blieb die gleiche wie in den früheren Versuchen: das bei verschiedenen Temperaturen mit Wasser bzw. schwachen

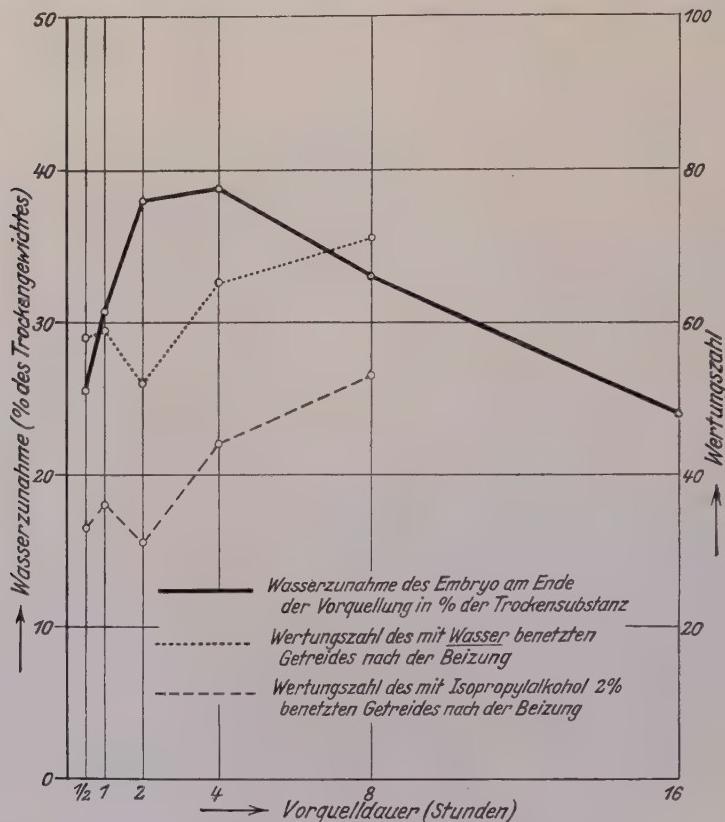


Abb. 3.

Einfluß einer Vorquellung von 10 °C auf Wasserzunahme des Embryo und Wirkung einer anschließenden einstündigen Beizung mit 55 °C auf das Keimverhalten (Wertungszahl).

Alkohollösungen benetzte und verschieden lange in geschlossenen Trommeln gehaltene Getreide wurde am Ende der jeweiligen Vorqueldauer in gleicher Weise mit hohen Temperaturen (55 bzw. 54 °C während 1 bis 1½ Stunden) gebeizt, anschließend das Keimverhalten durch Feststellung der Keimzahlen und durchschnittlichen Keimdauer untersucht und daraus die Wertungszahlen als Maß der eingetretenen Schäden berechnet (siehe S. 232).

Wir geben zunächst in den Tabellen 2 und 3 die Versuchsergebnisse zweier derartiger Versuchsreihen wieder; die Wertungszahlen bei der

höchsten Wassersättigung des Embryos während der betreffenden Vorquelltemperatur sind fettgedruckt. Um einen unmittelbaren Vergleich von Wasserverlauf im Embryo und Keimschäden zu ermöglichen, sind die Ergebnisse der in Tabelle 2 enthaltenen Versuchsreihe zusammen mit den Wasserbestimmungen des Embryos in den Abbildungen 2 bis 5 gleichzeitig graphisch dargestellt. Bei den Wasserwerten handelt es sich

Tabelle 2.

**Einfluß verschiedener Vorquelltemperaturen und Vorqueldauer auf das Keimverhalten (Wertungszahl) des nach der Vorquellung in gleicher Weise 1 Stunde mit 55° C gebeizten Weizens.**

Weizensorte: Santa Fé-Weizen.

Benetzung: 6 Liter Wasser bzw. 2% Isopropylalkohollösung je Zentner.

Vorquell-dauer Std.	Wasser				Isopropylalkohol 2%			
	Wirkung der Beizung nach einer Vorquelltemperatur von				Wirkung der Beizung nach einer Vorquelltemperatur von			
	1°	10°	20°	30°	1°	10°	20°	30°
1/2	46,0	58,5	56,0	61,0	30,0	33,0	31,0	36,5
1	54,0	59,0	60,5	60,5	31,0	36,5	34,5	44,0
2	47,5	52,5	61,5	75,0	30,0	31,0	43,0	58,0
4	64,0	65,5	69,5	86,0	37,0	44,0	56,0	72,0
8	64,0	71,0	82,5	93,0	41,0	53,5	71,0	86,0
16	69,0	—	—	—	55,0	—	—	—

Die fettgedruckten Werte entsprechen der höchsten Wasseraufnahme des Embryos bei der jeweiligen Vorquelltemperatur.

Tabelle 3.

**Einfluß verschiedener Vorquelltemperaturen und Vorqueldauer auf das Keimverhalten (Wertungszahl) des nach der Vorquellung in gleicher Weise 1½ Stunden mit 54° C gebeizten Weizens.**

Weizensorte: Santa Fé-Weizen.

Benetzung: 5 Liter Wasser bzw. Brennspiritus-Lösung je Zentner.

Vorquell-dauer Stunden	Wasser			Brennspiritus 1,5%			Brennspiritus 3%		
	Wirkung der Beizung nach einer Vorquelltemperatur von			Wirkung der Beizung nach einer Vorquelltemperatur von			Wirkung der Beizung nach einer Vorquelltemperatur von		
	1°	10°	20°	1°	10°	20°	1°	10°	20°
1/2	76,5	80,5	90,5	67,5	65,5	75,5	49,5	46,0	58,5
1	78,5	77,0	98,0	64,5	64,5	99,5	43,0	40,0	60,5
2	75,0	87,5	92,5	59,5	76,0	96,0	47,5	50,5	93,5
4	85,0	92,5	103,5	67,5	79,5	93,0	54,0	69,5	88,0
8	88,5	98,5	101,0	74,0	89,0	100,0	61,0	69,0	100,0
16	88,0	96,5	101,0	79,5	96,5	101,0	70,0	96,0	96,0
24	97,0	99,0	102,0	89,5	99,5	97,5	81,5	95,0	97,5

Die fettgedruckten Werte entsprechen der höchsten Wasseraufnahme des Embryos bei der jeweiligen Vorquelltemperatur (Versuch mit 6 Liter Benetzungsflüssigkeit je Zentner Getreide).

um die auf Trockengewicht berechnete jeweilige Wasserzunahme; die absoluten Wasserwerte liegen naturgemäß höher, weil zu dem aufgenommenen Wasser noch der natürliche Wassergehalt des Kornes bzw. des Embryoteiles kommt.

Wir wollen zunächst denjenigen Teil der Keimkurven besprechen, der dem Abfall des Wassergehaltes des Embryos als Folge der Abwandlung des Wassers in das Endosperm entspricht. Hier sehen wir bei

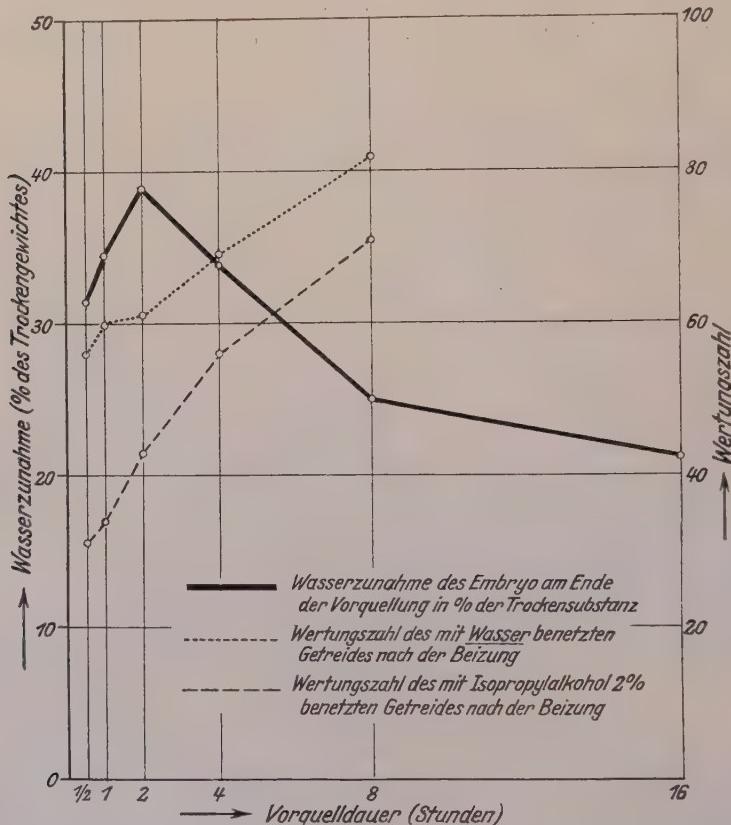


Abb. 4.

**Einfluß einer Vorquellung von 20° C auf Wasserzunahme des Embryo und Wirkung einer anschließenden einstündigen Beizung mit 55° C auf das Keimverhalten (Wertungszahl).**

Verlängerung der Vorquelldauer mit abnehmendem Wassergehalt eine Veränderung der Keimschäden. Daß es sich hierbei um durchaus gesetzmäßige Beziehungen handelt, geht eindeutig daraus hervor, daß einem langsamen Abfall des Wassergehaltes eine schwächere, einem schnelleren eine starke Herabsetzung der Keimschäden (langsamer bzw. schneller Anstieg der Wertungszahlen) entspricht. In den Versuchen haben außer Wasser auch schwache Alkohollösungen Verwendung gefunden; die Kurven

der Wertungszahlen laufen durchaus parallel, so daß es nicht nötig ist, auf Einzelheiten näher einzugehen. Einer Wasserzunahme von 36,5% (16 stündige Vorquellung bei 1°), 33,1% (8 Stunden 10°), 33,8% (4 Stunden 20°) und 32,1% (2 Stunden 30°) entsprechen die Wertungszahlen 69,0, 71,0, 69,5 und 75,0 bei Wasser und von 55,0, 58,5, 56,0 und 58,0 bei 2% Isopropylalkohol als Beizflüssigkeit. Bei der in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuchsreihe ergeben sich höhere Werte, einmal durch die

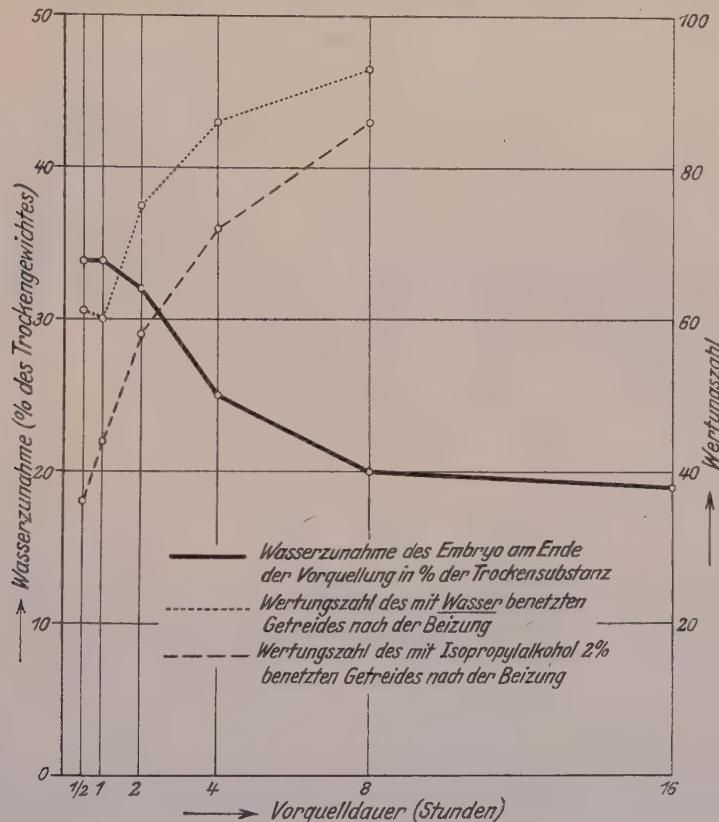


Abb. 5.

**Einfluß einer Vorquellung von 30° C auf Wasserzunahme des Embryo und Wirkung einer anschließenden einstündigen Beizung mit 55° C auf das Keimverhalten (Wertungszahl).**

Verwendung von nur 5 Liter Beizflüssigkeit je Zentner, während die Feststellung der Wasserzunahme des Embryos in Versuchsreihen mit 6 Liter Beizflüssigkeit je Zentner erfolgt war, zum anderen durch die geringere Beiztemperatur.

Während der zweite Teil der Keimkurven eine weitgehende Übereinstimmung von Wassergehalt des Embryos und Keimschäden ergibt, machen sich bei kurzen Vorquellzeiten gewisse Unregelmäßigkeiten geltend,

indem steigendem Wassergehalt nicht immer, wie erwartet werden müßte, eine stärkere Schädigung, sondern meist umgekehrt bereits ein Anstieg der Wertungszahlen entspricht. Die Erscheinung erklärt sich dadurch, daß der Wassergehalt des Embryos zu Beginn der Wärmebehandlung bestimmt ist und während der 1- bzw.  $1\frac{1}{2}$ -stündigen Behandlung mit hohen Temperaturen ebenfalls noch Verschiebungen erfährt, die naturgemäß die Beizwirkung beeinflussen. Aus den im vorigen Abschnitt wiedergegebenen Versuchen (Abb. 1) wissen wir, daß Temperaturen von über  $50^{\circ}\text{C}$  die Wasserableitung aus dem Embryo in das Endosperm ganz außerordentlich beschleunigen, so daß es im Embryo überhaupt nicht zu den hohen absoluten

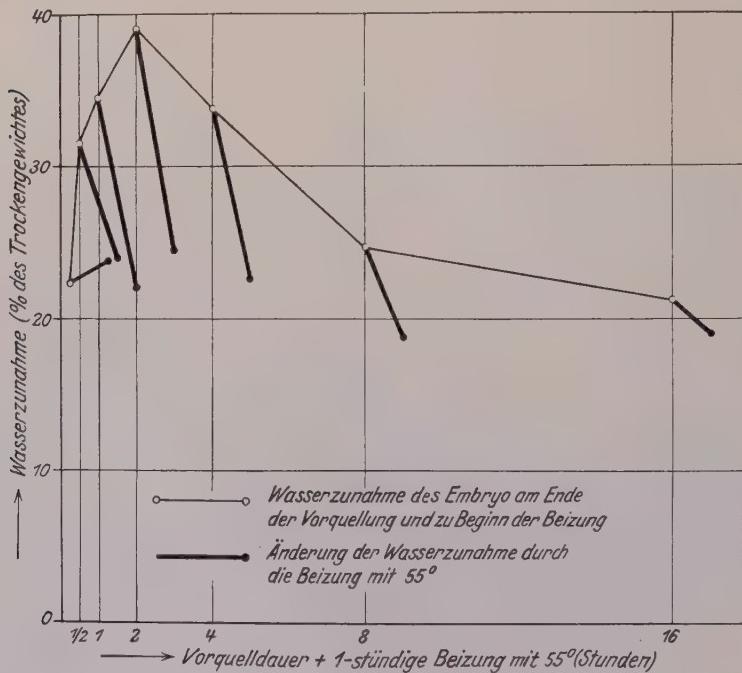


Abb. 6.

Die Beeinflussung der Wasserverhältnisse des Keimlings durch eine einstündige Beizung mit  $55^{\circ}\text{C}$  nach verschiedenen langer Vorquellung bei  $20^{\circ}\text{C}$ .

Werten der Wasserzunahme kommt, die wir bei tiefen Quellungstemperaturen beobachten können.

In einer besonderen, in Abb. 6 dargestellten Versuchsreihe haben wir die Wasserverhältnisse des Embryos während des Beizvorganges durch Feststellung des Wassergehaltes zu Beginn und am Ende einer 1-stündigen Beizung mit  $55^{\circ}\text{C}$  untersucht; die stark gezeichneten Linien zeigen die Veränderungen während der Beizung an. Wir sehen, daß die Behandlung mit hohen Temperaturen die weitere Wasserzunahme des Embryos sistiert und an deren Stelle eine beschleunigte Wasserabnahme treten läßt.

Berücksichtigen wir diese Beobachtung, so kommen wir für alle Vorquellzeiten und Vorquelltemperaturen zu der Feststellung, daß die Höhe der Vorquelltemperatur an sich für die Keimschäden ohne Einfluß ist; ausschlaggebend ist der Wassergehalt des Embryos während des Beizvorganges: gleicher Wassergehalt des Embryos während der Warmbeize bewirkt gleiche Keimschäden. Die Vorquelltemperatur reguliert und bestimmt nur die Geschwindigkeit, mit welcher sich Wasseraufnahme des Embryos und Wasserabgabe aus dem Embryo in das Endosperm vollziehen.

#### V. Die Bedeutung des Wassergehaltes des Embryos für die Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf den Flugbrandbefall (*Ustilago tritici*).

Auf die Bedeutung des Wassergehaltes des Embryos für die Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf den Flugbrandbefall sind wir in unserer letzten Veröffentlichung (7, S. 283) ebenfalls bereits kurz eingegangen. Wir konnten für die untersuchten Vorquellzeiten von ein bis drei Stunden bei 20° C feststellen, daß die Wirkung der hohen Temperaturen mit Verlängerung der Vorquellzeit „trotz dem mit verlängerter Vorquellung abnehmenden Wassergehalt des Embryos“ zunimmt. Da diese Feststellung sich nur auf Versuche mit verhältnismäßig kurzen Vorquellzeiten und bei einer Vorquelltemperatur stützt, mußte die angeschnittene Frage auf verbreiterter Versuchsbasis erneut bearbeitet werden.

In den folgenden Versuchen sind Vorquelltemperaturen von 1°, 10°, 20°, 30° C und Vorquellzeiten zwischen 1/2 und 24 Stunden zur Anwendung gekommen. Da es sich darum handelte, den Einfluß der Vorquellung auf den Beizerfolg zahlenmäßig genauer zu verfolgen, wurden Benetzungsmenge, Beiztemperatur und Beizdauer absichtlich nicht zu hoch gewählt, so daß völlige Brandfreiheit nur in einem kleinen Teil der Versuche erzielt wurde. (Versuch von Tabelle 4: 5 Liter Beizflüssigkeit, 1 1/2 stündige Beizung bei 54° C). In einer weiteren Versuchsreihe (Tabelle 5) kam eine etwas stärkere Beizung (6 Liter Beizflüssigkeit, einstündige Behandlung mit 55° C) zur Anwendung. Weiter wurden die Versuche gleichzeitig wieder mit Wasser und mit schwachen Alkohollösungen als Beizflüssigkeit durchgeführt. Die Ergebnisse der Triebkraftbestimmungen sind in die Tabellen mit aufgenommen.

Wenn wir von gewissen Unregelmäßigkeiten bei den kürzesten Quellungszeiten absehen, bewirkt eine Verlängerung der Vorquelldauer zunächst eine eindeutige Steigerung der Beizwirkung auf den Flugbrandpilz; bei weiterer Verlängerung der Vorquelldauer kommt es dann aber nach einer je nach Quellungstemperatur verschieden langen Zeit wieder zu einem Anstieg der Flugbrandprozente, also zu einer Abschwächung oder sogar zu einer völligen Aufhebung der Beizwirkung. Die maximale Flugbrandbeseitigung durch die stets in gleicher Weise (1 1/2 Stunden 54° C) durch-

Tabelle 4.

Weizenflugbrandversuche.

Die Wirkung einer  $1\frac{1}{2}$ -stiündigen Warmnetzungsbeize von  $54^{\circ}$  nach verschiedenen langer Vorquellung bei Temperaturen von  $1^{\circ}$ ,  $10^{\circ}$  und  $20^{\circ}$ .

Bewetzung: 5 Liter je Zentner Weizen.

Feldausaat: Je 2 Parzellen à 420 Korn.

(Kontrollen: 6 Parzellen.)

G. Gaßner und H. Kirchhoff:

Temperatur ° C	Dauer Stunden	Wasser		Brennspiritus 1,5 %		Brennspiritus 3 %	
		Triebkraft kranke Pflanzen %	Gesunde Pflanzen %	Flugbrand %	Triebkraft kranke Pflanzen %	Gesunde Pflanzen %	Flugbrand %
10	$\frac{1}{2}$	vakat	491 : 34	6,5	vakat	486 : 19	3,8
	1	vakat	535 : 29	5,1	vakat	464 : 24	4,9
	2	vakat	532 : 19	3,4	vakat	449 : 6	1,3
	4	vakat	527 : 16	2,9	vakat	495 : 2	0,4
	8	90,5	526 : 3	0,6	vakat	490 : 1	0,2
	16	84,0	533 : 2	0,4	vakat	476 : 1	0,2
	24	86,0	545 : 9	1,6	vakat	476 : 1	0,2
			85,5 —	525 :	0	0	0
10	$\frac{1}{2}$	84,0 —	570 : 14	2,4	88,0 —	484 : 32	6,2
	1	88,0	558 : 50	8,2	82,0 —	517 : 6	1,1
	2	88,0	528 : 18	3,3	84,0 —	485 : 10	2,0
	4	90,0	544 : 9	1,6	88,5	535 : 4	0,7
	8	93,5	612 : 13	2,1	87,5	525 : 3	0,6
	16	91,0	486 : 153	23,9	87,0	552 : 35	6,0
	24	96,0	474 : 137	22,4	vakat	543 : 108	16,6
					vakat	523 : 36	6,4
20	$\frac{1}{2}$	90,5	459 : 111	19,5	85,0	481 : 28	5,5
	1	92,5	434 : 186	23,9	90,5	494 : 103	17,2
	2	86,0	442 : 111	20,1	92,0	482 : 84	16,3
	4	95,0	499 : 26	4,9	87,5	464 : 12	2,5
	8	93,5	453 : 76	14,4	92,0	509 : 70	12,1
	16	94,5	533 : 123	18,6	94,0	534 : 147	21,6
	24	85,0	516 : 121	19,0	94,0	509 : 134	20,8
Kontrolle unbehandelt		93,8	1435 : 355	19,8			

gefährte Warmbeize liegt bei  $1^{\circ}\text{C}$  zwischen 8 und 16 Stunden Vorquell-dauer, bei  $10^{\circ}\text{C}$  zwischen 4 und 8 Stunden Vorquellzeit und bei  $20^{\circ}\text{C}$  ziemlich genau bei einer vierstündigen Benetzungsdauer.

Wir müssen also zunächst unsere früheren Feststellungen über die günstige Wirkung einer verlängerten Vorquelldauer für den Erfolg der Warmbeize dahin einschränken bzw. ergänzen, daß die bei Verlängerung der Vorquelldauer zu beobachtende Steigerung der Beizwirkung nur für eine gewisse Vorquellzeit vorliegt; die über diese Zeit hinausgehende Verlängerung schwächt dann wieder die Beizwirkung ab oder hebt sie sogar ganz auf. Der Zeitpunkt des Umschwungs von gesteigerter zu abgeschwächter Wirkung wird durch die Quellungs-temperatur bestimmt; maximale Beizwirkung und Wiederanstieg der Flugbrandprozente treten um so eher ein, je höher die Vorquelltemperatur gewählt wird.

Die Beziehungen zwischen Vorquelltemperatur, Vorquelldauer und Beizwirkung werden klarer, wenn wir das Ergebnis wieder graphisch darstellen und dabei gleichzeitig auch die sich im Embryo während der Vorquellung abspielenden Verschiebungen des Wassergehaltes in Betracht ziehen (Abb. 7—9). Leider sind seiner Zeit keine parallelen Wasserbestimmungen für die in den vorstehenden Versuchen angewandten Benetzungsmengen von fünf Liter je Zentner Saatgut durchgeführt; wir müssen deshalb bezüglich der Wassergehaltsbestimmungen auf eine Versuchsreihe zurückgreifen, in welcher der Weizen gleichmäßig mit sechs Liter je Zentner benetzt war. Die Kurve der gefundenen Wasserwerte liegt also etwas zu hoch; jedoch wird der Kurvenverlauf selbst durch diese Ungleichmäßigkeit kaum berührt. Daß im übrigen die Beizwirkung bei einer Benetzungsmenge von sechs Liter je Zentner Saatgut in derselben Weise durch Vorquelldauer und Temperatur während der Vorquellung beeinflußt wird, möge noch die in der folgenden Tabelle 5 zusammengestellte Versuchsreihe zeigen.

Die Ergebnisse sind weniger instruktiv als die vorher besprochenen Versuche, weil die angewandte Benetzungsmenge von 6 Liter im Verein mit einer erhöhten Beiztemperatur von  $55^{\circ}\text{C}$  die Beizwirkung zu stark hervortreten läßt. Den Anstieg der Beizwirkung mit zunehmender Vorquelldauer können wir in der Mehrzahl der Versuche deutlich verfolgen, dagegen ist das Nachlassen der Beizwirkung als Folge weiter verlängerter Vorquelldauer nur noch in der mit Wasser und einer Vorquelltemperatur von  $30^{\circ}\text{C}$  durchgeföhrten Versuchsreihe eindeutig feststellbar.

Wir wollen deshalb den weiteren Ausführungen wieder die in den Versuchen von Tabelle 4 erhaltenen Ergebnisse zugrunde legen und an Hand der folgenden graphischen Darstellungen einer genaueren Be-trachtung unterziehen.

Tabelle 5.  
Weizenflugbrandversuche.

Die Wirkung einer 1-stündigen Warmbenetzungsbeize von 55° nach verschiedenen langer Vorquellung bei Temperaturen von 1°, 10°, 20° und 30°.

Benetzung: 6 Liter je Zentner Weizen.

Feldaussaat: Je 2 Parzellen a 420 Korn.

(Kontrollen: 8 Parzellen, Beizung ohne Vorquellung: 4 Parzellen.)

Temperatur ° C	Vorquellung	Wasser			Isopropylalkohol 2%		
		Dauer in Stun- den	Triebkraft %	Gesunde : kranke Pflanzen	Flugbrand %	Triebkraft %	Gesunde : kranke Pflanzen
1°	1/2	75,5 —	372 : 0	0	48,5 — —	294 : 1	0,3
	1	85,5	360 : 8	2,2	62,0	278 : 0	0
	2	80,5 —	386 : 2	0,5	66,0 —	278 : 1	0,4
	4	82,5	453 : 11	2,4	69,0 —	328 : 0	0
	8	91,0	430 : 1	0,2	73,0 —	341 : 0	0
	16	91,0	428 : 0	0	75,0 —	439 : 0	0
10°	1/2	84,0 —	391 : 17	4,2	56,5	361 : 5	1,4
	1	82,5 —	429 : 13	2,9	56,5 —	337 : 0	0
	2	81,5 —	392 : 0	0	72,5 —	267 : 0	0
	4	87,0	486 : 0	0	72,0 —	343 : 0	0
	8	95,0	494 : 1	0,2	84,0 —	410 : 0	0
20°	1/2	91,5 —	440 : 24	5,2	60,5 —	319 : 3	0,9
	1	81,0 —	453 : 11	2,4	61,5 —	335 : 0	0
	2	88,0	485 : 4	0,3	66,0 —	398 : 0	0
	4	88,0	634 : 1	0,2	83,0 —	454 : 0	0
	8	91,0	623 : 3	0,5	94,5	687 : 0	0
30°	1/2	83,5	510 : 12	2,3	65,5 —	374 : 0	0
	1	88,0	567 : 3	0,5	76,0 —	409 : 2	0,5
	2	90,5	634 : 1	0,2	83,5	553 : 0	0
	4	97,0	612 : 25	3,9	97,0	634 : 0	0
Beizung ohne Vorquellung		82,5 —	889 : 50	5,3	57,0 —	661 : 16	2,4
Kontrollen unbehandelt		96,8	1994 : 527	20,9			

Die Abbildungen zeigen gleichzeitig den Verlauf der Wasserzu- und -abnahme des Embryos und die in den Flugbrandprozenten zum Ausdruck kommende Abhängigkeit der Beizwirkung von Vorquelltemperatur und -dauer. Abgesehen von den bereits kurz erwähnten teilweisen Unregelmäßigkeiten des Flugbrandbefalles bei sehr kurzen Vorquellzeiten sehen wir zunächst gesteigerte Beizwirkung mit verlängerter Vorquelldauer und damit zunehmenden Wassergehalt des Embryos, daran anschließend dann Abnahme des Wassergehaltes und Wiederanstieg des Flugbrandbefalles, also Abschwächung und schließlich Aufhebung der Beizwirkung. Diese Gesetzmäßigkeit lässt sich bei allen Vorquelltemperaturen (1°, 10°, 20° C) in gleicher Weise verfolgen, auch bestehen offensichtliche Beziehungen

zwischen der Geschwindigkeit, mit welcher der Wassergehalt sich bei den verschiedenen Quellungstemperaturen ändert, und der Schnelligkeit, mit welcher die maximale Wirkung auf den Flugbrandpilz erreicht und wieder überschritten wird.

Es fällt nun auf, daß der Höhepunkt der Beizwirkung auf den Pilz nicht genau mit dem Maximum der Wasserzunahme des Embryos zu Beginn der Warmbeize zusammenfällt, sondern in ebenfalls offensichtlich gesetzmäßiger Weise erst bei einer Vorquelldauer liegt, die bereits wieder

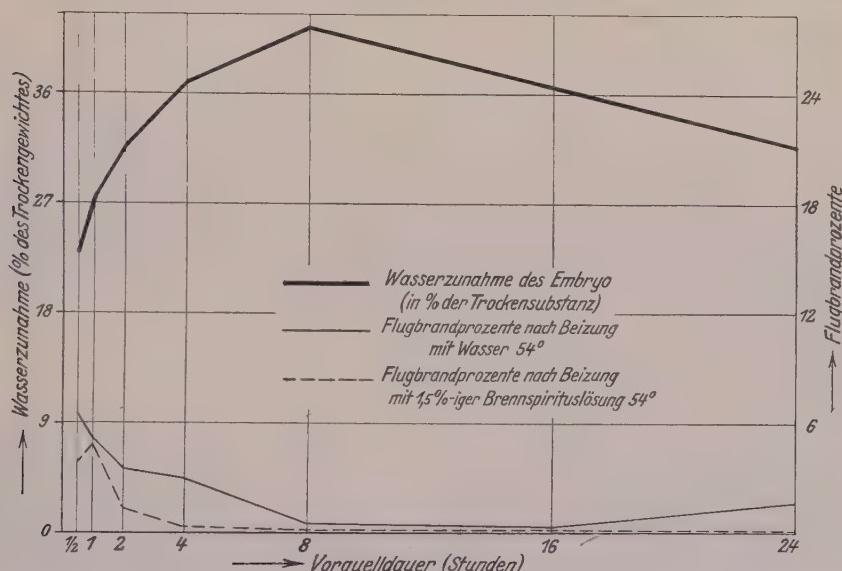


Abb. 7.

#### Einfluß einer Vorquellung von $+1^{\circ}\text{C}$ auf Wasserzunahme des Embryo

(Benetzung mit 6 Liter je Zentner) und Wirkung einer  $1\frac{1}{2}$ -stündigen Beizung mit  $54^{\circ}\text{C}$  auf den Flugbrandbefall (Benetzungs menge in den Flugbrandversuchen 5 Liter je Zentner).

ein deutliches Absinken des Wassergehaltes des Embryos bewirkt. Wir sehen das besonders deutlich bei der Vorquelltemperatur von  $20^{\circ}$  (Abb. 9), wo die stärkste Beizwirkung nach 4 stündiger Vorquellung, der höchste Wassergehalt aber nach 2 stündiger Quellung erzielt wird. Aber auch bei  $1^{\circ}$  und bei  $10^{\circ}\text{C}$  entspricht dem deutlichen Abfall des Wassergehaltes zwischen 8- und 16 stündiger bzw. zwischen 4- und 8 stündiger Vorquell-dauer noch durchaus keine Verringerung der Beizwirkung; diese tritt vielmehr erst ein, wenn der Wassergehalt des Embryos weiter sinkt. Auch in den in Tabelle 5 wiedergegebenen Versuchsreihen sehen wir noch eine Steigerung oder doch zum mindesten keine Abnahme der Beizwirkung bei solchen Vorquelldauern, in denen das Maximum der Wasserzunahme des Embryos bereits überschritten ist und einem Sinken des Wassergehaltes Platz gemacht hat.

Es kann natürlich kein Zufall sein, daß die Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryos und Beizwirkung auf den Flugbrandpilz sich in etwas anderer Weise darstellen, als wir das im vorigen Abschnitt für Wasseraufnahme des Embryo einerseits und Schädigungswirkungen auf den Keimling andererseits festgestellt haben. Auch für den Flugbrandpilz müssen wir annehmen, daß die Temperaturwirkung durch den Wassergehalt des Myzels in ausschlaggebender Weise bestimmt wird. Wenn also zwischen Beizwirkung auf Embryo und Pilzmyzel Unterschiede bestehen,

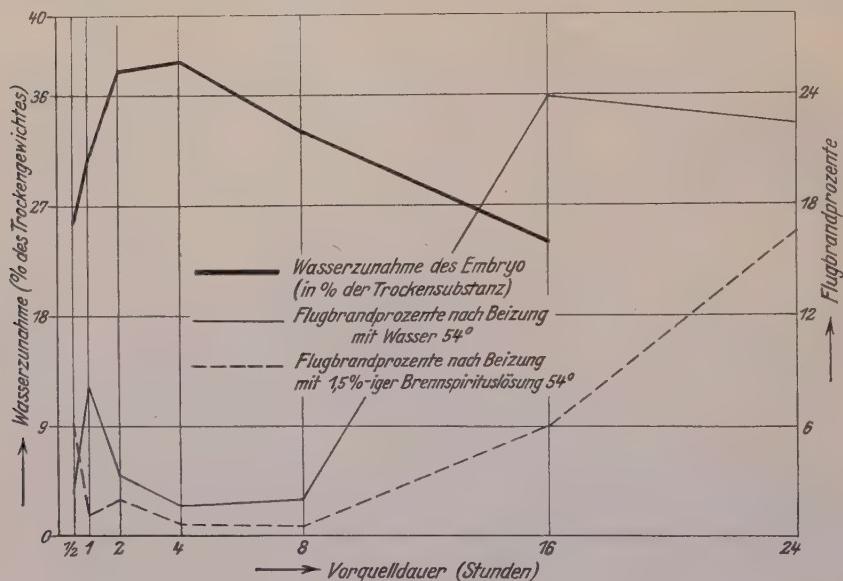


Abb. 8.

**Einfluß einer Vorquellung von 10° C auf Wasserzunahme des Embryo**  
(Benetzung mit 6 Liter je Zentner) und Wirkung einer 1½ stündigen Beizung mit 54° C auf den Flugbrandbefall (Benetzungsmenge in den Flugbrandversuchen 5 Liter je Zentner).

so erscheint der Schluß berechtigt, daß sich entweder die Wasseraufnahme des Pilzes nach etwas anderen Gesetzmäßigkeiten vollzieht als die der Keimplatzellen, oder aber, daß der von uns gemessene durchschnittliche Wassergehalt des Embryos keinen richtigen Maßstab für den wirklichen Wassergehalt derjenigen Kornteile abgibt, in denen das Flugbrandmyzel in erster Linie lokalisiert ist. Welche dieser beiden Möglichkeiten in höherem Maße zu Recht besteht, läßt sich im Augenblick nicht entscheiden; vielleicht wirken auch beide Momente zusammen, um die im obigen dargelegten Verschiedenheiten in den Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryo und Beizwirkung auf das Flugbrandmyzel zutage treten zu lassen.

Da ein Parasitieren nur denkbar scheint, wenn der Pilz als Parasit höhere osmotische Saugkräfte besitzt als die Wirtspflanze, so lassen sich hieraus gewisse Verschiedenheiten im Wassergehalt von Keimplatz-

gewebe und Pilzmyzel erklären. Es besteht die Möglichkeit, daß der Pilz, der zu seiner vollen Wassersättigung naturgemäß ebenfalls eine gewisse Zeit benötigt, Wasser nicht nur dann aufnimmt, wenn der Wassergehalt des Keimlings sein Maximum erreicht hat, sondern daß er darüber hinaus vermöge seiner höheren osmotischen Kräfte den Zellen des Embryo auch dann noch weiter Wasser entzieht, wenn es infolge der Ableitung des Wassers ins Endosperm bereits wieder zu einer Verringerung des Wassergehaltes im Embryogewebe gekommen ist. Die Folge wäre, daß der Pilz

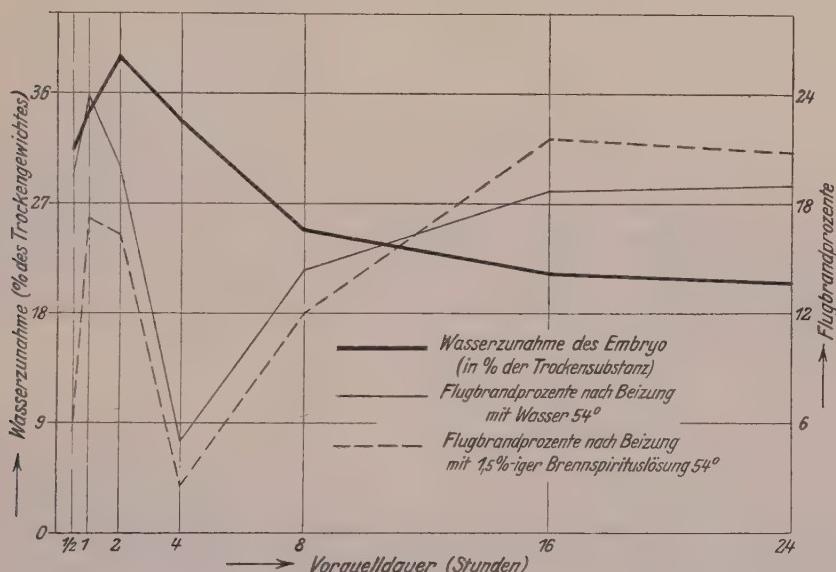


Abb. 9.

#### Einfluß einer Vorquellung von 20° C auf Wasseraufnahme des Embryo

(Benetzung mit 6 Liter je Zentner) und Wirkung einer 1½ stündigen Beizung mit 54° C auf den Flugbrandbefall (Benetzungsmenge in den Flugbrandversuchen 5 Liter je Zentner).

sein Maximum der Wasseraufnahme später erreicht, als das umgebende Keimlingsgewebe. Aus der Beobachtung, daß die Wirkung der Warmwasserbeize auf den Flugbrandbefall schließlich ebenfalls sinkt, wenn die Vorqueldauer noch weiter verlängert wird, müssen wir naturgemäß schließen, daß der Pilz dann seinerseits auch Wasser abgibt, aber aus den erwähnten Gründen eben später und langsamer als die Zellen des Keimlingsgewebes.

Die zweite im obigen angedeutete Erklärungsmöglichkeit besteht in der Annahme, daß der Wassergehalt des Embryos während einer bestimmten Phase des Quellungsprozesses nicht völlig gleichmäßig ist, sondern lokale Verschiedenheiten aufweist, wobei besonders zu berücksichtigen ist, daß die dem Korn im Benetzungsverfahren gebotenen Wassermengen an sich begrenzt sind. In diesem Fall ist es natürlich durchaus denkbar, daß

solche in dem durchschnittlichen Wassergehalt des Keimlings noch nicht zum Ausdruck kommenden Verschiedenheiten die Quellungsvorgänge des Pilzmyzels und damit die Wirkung der Beizung auf den Flugbrand in Mitleidenschaft ziehen.

Als Maßstab des Wasserzustandes des Embryos haben wir die Wasserzunahme des gesamten Embryoteiles einschließlich des Scutellums und unbedeutender, dem Schildchen anhängender Endospermreste benutzt. Da die Wasserzufuhr auf der Außenseite, die Weiterleitung des Wassers in das Endosperm auf der entgegengesetzten Seite stattfindet, besagen die gefundenen Wasserwerte natürlich nichts über etwaige lokale Verschiedenheiten der Wasserverteilung im Embryo. Für das Zentrum des Keimlingsteiles des Samens, also etwa für den dort liegenden Stammvegetationskegel können wir allerdings den gefundenen Mittelwert als ungefähr den örtlichen Verhältnissen entsprechend ansehen. So erklärt es sich sicherlich, daß die durch die Warmbeize bedingten Keimschäden in ausreichend genauer Weise den gefundenen Wasserwerten parallel gehen, vor allem, wenn wir noch den Wasserverschiebungen während der Wärmebehandlung selbst (vgl. S. 240) Rechnung tragen.

Es genügt nun aber nicht, nur den Wasserzustand in der Mitte des Keimlings zu berücksichtigen, wenn wir einen Einblick in die Wirkung der Vorquellungsbedingungen auf die Unterdrückung des Flugbrandbefalls haben wollen; denn das Flugbrandmyzel befindet sich, wie wir aus den sorgfältigen Untersuchungen von Lang (8) wissen, nicht nur im Innern des Embryoteils, sondern in erster Linie oder doch besonders reichlich gerade in denjenigen peripheren Schichten, die an das Endosperm grenzen. Bei der Bedeutung der Langschen Feststellungen für die Beurteilung der Warmwasserwirkung auf den Flugbrandpilz seien die entsprechenden Ausführungen (S. 95) hier wörtlich angeführt:

„Im Innern des Scutellums wachsen die Hyphen zwischen den Zellen, ohne jedoch ausschließlich die Interzellulargänge zu benützen. Ja es scheint, als drängten die Hyphen mit Vorliebe die Zellwände an den zwischen den Interzellularen gelegenen Partien auseinander; an einer solchen Stelle sehen wir das Myzel eine knotenförmige Anschwellung bilden, die sich auf den Interzellularraum beschränkt; von hier aus wächst es dann als normale Hyphe zwischen den Zellen weiter. Sehr bald hat es die Mitte des nur geringe Dicke besitzenden Scutellums erreicht, folgt nun den langgestreckten Zellen der Gefäßbündelanlage und biegt mit diesen in das zwischen Scheitel und Wurzelanlage befindliche Gewebe des Keimlings ein. Dies ist der äußerste Punkt, den der Pilz vier Wochen nach der Infektion erreicht.“

Bei einer langsam reifenden Weizensorte „entwickelte sich nun das Myzel noch üppig weiter, wenn auch das Längenwachstum offenbar verlangsamt wurde. Wir finden am Schluß überall im Embryo Myzel, nur die Wurzelanlage macht eine Ausnahme; das Gewebe rings um das Würzelchen herum ist von Pilzgewebe durchsetzt, aber das Würzelchen selber bleibt verschont. Im übrigen ist die Verteilung des Myzels in den Organen des Keimlings einschließlich des Scutellums eine recht gleichmäßige. . . . Die Zuwanderung von Myzelfäden zum Scutellum scheint ebenfalls fast bis zum Schluß fortgedauert zu haben; in diesem Sinne

dürften wohl die außerordentlich reichlichen Myzelansammlungen an und zwischen den Saugzellen gedeutet werden.“

Die Sperrungen sind von uns vorgenommen; die Befunde von Lang lassen keinen Zweifel, daß eine wirksame Bekämpfung des Flugbrandmyzels nur möglich ist, wenn die in und am Scutellum liegenden Myzelherde mit erfaßt werden.

Dieser Teil des Keimlings muß aber bezüglich der Änderungen des Wassergehaltes besonderen Gesetzmäßigkeiten unterliegen, die in den Werten der durchschnittlichen Wasserzunahme des Keimlings nicht ohne weiteres Ausdruck finden. Denn das Wasser dringt als Welle von der entgegengesetzten Seite des Keimlingsteiles ein, um allmählich vorzu-schreiten und in das Endosperm abzuebben. Die Durchschnittswasser-werte des Keimlings geben also zunächst für den Teil an der Grenze zwischen Embryo und Endosperm zu hohe Zahlen an; erst wenn die Wasserwelle vom Embryo in das Endosperm übertritt, werden die Teile am Scutellum in ausreichender Weise mit Wasser versehen, so daß nun-mehr die Beizwirkung auch hier voll zum Ausdruck kommen kann. Dieser Punkt wird offensichtlich erst erreicht, wenn die Abnahme des durchschnittlichen Wassergehaltes des gesamten Keimlingsteiles eine teil-weise Abgabe von Wasser an das Endosperm, also das Fortschreiten der Wasserwelle durch das Scutellum nach dem Endosperm, anzeigen.

Berücksichtigen wir dies, so kommen wir zu der Feststellung, daß nicht nur die Keimschäden des Embryos, sondern auch die Abtötung bzw. Hemmung des Flugbrandmyzels durch den Wassergehalt der betreffenden Zellen bestimmt werden; in beiden Fällen entspricht höchstem Wassergehalt die stärkste Beizwirkung einer Wärmebehandlung. Die räumi-lichen und zeitlichen Verschiebungen der Wasserkurve in den einzelnen Teilen des Keimlingsgewebes müssen bewirken, daß die höchsten Schädigungen des Embryos ziemlich genau mit dem Er-reichen der höchsten Wassersättigung des Gesamtkeimlings zusammenfallen, die stärkste Beizwirkung auf den peripher liegenden Teil des Flugbrandmyzels aber erst etwas später erreicht wird, nämlich dann, wenn die nach dem Endosperm zu gelegenen Teile des Keimlings ihren höchsten Wassergehalt aufweisen. Dieser Zeitpunkt fällt also nicht mit dem Erreichen des Höchstwassergehaltes des Gesamtkeimlings zusammen, weshalb sich in Beizwirkung auf Korn und auf Flugbrandmyzel Verschiedenheiten bemerkbar machen müssen.

Allerdings muß noch auf einen Einwand kurz eingegangen werden. Bei der Kleinheit des Embryos kann es überraschend erscheinen, daß sich im Ablauf der Quellungsvorgänge in den einzelnen Keimlingsteilen zeitlich so bedeutende Differenzen bemerkbar machen, die z. B. bei Zimmer-temperatur immer noch etwa zwei Stunden betragen. Mit solchen Zeiten

müssen wir aber tatsächlich rechnen; wie schon die Wasserbestimmungen des Endosperms zeigen, gehen die Wasserbewegungen außerordentlich langsam vor sich. Im übrigen können wir zum Vergleich ein anderes Beispiel heranziehen, in dem die Quellungsgeschwindigkeit durch Versuche mit wässrigen Jodlösungen experimentell ziemlich genau festgestellt ist. In den kleinen Samen der Graminee *Chloris ciliata* läßt sich die Geschwindigkeit, mit der das Quellwasser vorschreitet, annähernd mit 0,15 mm je Stunde (Gaßner, 2) berechnen. Dieser Wert würde bereits ausreichend niedrig liegen; er ist vielleicht sogar noch zu hoch geschätzt, weil bei den oben angeführten Versuchen mit *Chloris* in Wasser gelegte Körner verwendet sind, während die vorstehend besprochenen Weizenversuche mit dem Benetzungsverfahren, also mit einer relativ weit geringeren Wassermenge durchgeführt sind.

Auf jeden Fall gestattet uns die Betrachtung der Wasserverschiebungen im Keimling einen gewissen Einblick in Wirkung und Wesen der Warmwasserbeize. Gerade die im vorstehenden gewählte Durchführung der Warmbeize als Warmbenetzungsbeize hat es ermöglicht, die Beziehungen zwischen Wassergehalt und Beizwirkung in ganz anderer Weise klarzustellen, als es bei ausschließlicher Berücksichtigung der Tauchbeize, auf die wir in einem späteren Abschnitt noch eingehen, möglich gewesen wäre; sie gestattet aber auch die endgültige Entscheidung über die Richtigkeit oder Unrichtigkeit der von Appel und Riehm (1) aufgestellten Hypothese, daß höhere Vorquellungstemperaturen deshalb wirksamer sind, weil sie die Keimung des ruhenden Myzels günstig beeinflussen. Aus diesem Grunde empfehlen die Autoren die Anwendung einer Vorquelltemperatur, die „nahe dem Keimungsoptimum der Flugbrandsporen und wohl auch dem des Dauermyzels liegt.“ (1, S. 378).

Auf Grund der in den vorstehenden Abschnitten enthaltenen Feststellungen kann es aber keinem Zweifel unterliegen, daß höhere Vorquelltemperaturen das ruhende Myzel durchaus nicht in temperaturspezifischer Weise erwecken oder zum Keimen bringen. Nicht nur wirken höhere und tiefe Quellungstemperaturen gleich, wenn wir die Unterschiede der Quellungsgeschwindigkeit durch entsprechende Wahl der Quellungszeiten ausgleichen; es gilt das übrigens in genau derselben Weise auch für die später gebrachten Versuche mit der Warmwassertauchbeize, die den Untersuchungen von Appel und Riehm in erster Linie zugrunde gelegt ist. Vor allem aber zeigen die vorstehenden Versuche mit der Warmbenetzungsbeize, daß längere Vorquelldauern eine vorher bei kürzerer Benetzungsduauer vorhandene Beizwirkung wieder aufheben. Diese Feststellung erscheint mit der Annahme unvereinbar, daß es sich bei der Wirkung der Vorquellung nur darum handelt, „die Keimung des ruhenden Myzels“ einzuleiten.

Vielmehr sprechen alle Einzelheiten dafür, daß ausschließlich der jeweilige Quellungszustand von Embryogewebe und Flugbrandmyzel für den Effekt der Beizung maßgebend ist.

## VI. Beiztherapeutische Gesichtspunkte für die Gestaltung der Vorquellung in der Warmbenetzungsbeize.

Während die ersten Versuche zur Flugbrandbekämpfung durch Warmbenetzungsbeize ohne Vorquellung durchgeführt sind (4, 5), sind wir später sehr bald dazu übergegangen, in ähnlicher Weise wie bei der üblichen Warmwassertauchbeize dem eigentlichen Beizvorgang eine Vorquellung bei weniger hohen Temperaturen vorauszuschicken (6, 7). Die Frage nach der optimalen Ausgestaltung der Vorquellung ist in den früheren Untersuchungen offen geblieben; allerdings haben wir damals bereits feststellen können, daß kurze Vorquelldauern wegen der dabei auftretenden starken Keimschäden unzweckmäßig sind. Anderseits läßt sich aus den früheren Versuchen nicht erkennen, ob die Verlängerung der Vorquelldauer beliebig weit getrieben werden kann; auch fehlt noch der Einblick in die Bedeutung der Vorquelltemperatur für die Wirkung der Warmbenetzungsbeize.

Während wir der Ausarbeitung und Prüfung chemischer Beizmittel heute meist den Index  $\frac{c}{t}$  zugrunde legen (Gaßner, 3), wobei c die zur Abtötung des Pilzes ausreichende dosis curativa, t = dosis toxicata oder tolerata die Grenzkonzentration für Keimschäden anzeigen, ist die zahlenmäßige Erfassung des aus Vorquelldauer und Vorquelltemperatur sich zusammensetzenen Vorquellprozesses nicht so einfach. Selbst wenn wir nur einen der beiden Faktoren, etwa die Vorquelldauer, berücksichtigen, ergeben sich Abweichungen, weil die Vorquelldauer die Beizwirkung nicht in einer stetigen Kurve beeinflußt, indem steigende Vorquelldauer die Beizwirkung auf den Flugbrandpilz zunächst erhöht, dann aber wieder abschwächt.

Für die Beurteilung der anzuwendenden Vorquelldauer genügt auch fürs erste der Gesichtspunkt, diejenigen Kombinationen von Vorquelldauer und Vorquelltemperatur auszuwählen, bei denen die höchste Wirkung auf den Flugbrandpilz mit der geringsten Schädigung des Saatgutes vereinigt ist. Da die Verlängerung der Vorquelldauer die Keimschäden herabsetzt, werden wir gut tun, die Vorquellzeit möglichst lange zu wählen; die obere Grenze wird durch den Zeitpunkt bestimmt, zu dem die flugbrandherabsetzende Wirkung der Vorquellung wieder eine Abschwächung erfährt, die Flugbrandprozente also wieder ansteigen.

So kommen wir auf Grund der in den Tabellen 3 und 4 dargestellten Ergebnisse für eine Benetzung mit 5 Liter Wasser je Zentner und einer  $1\frac{1}{2}$  stündigen Beizung mit  $54^{\circ}\text{C}$  zu einer optimalen Vorquelldauer von

16 Stunden bei 1°C, von 8 Stunden bei 10°C und von 4 Stunden bei 20°C, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die angewandte Wärmebehandlung den Flugbrand nicht restlos beseitigt hat. Um dies zu erreichen, muß entweder die Flüssigkeitsmenge je Zentner oder die Temperatur der Beizung erhöht oder die Beizwirkung durch Alkoholzusatz gesteigert werden.

Ähnliche Gesetzmäßigkeiten erkennen wir in den mit einer Benetzungsmenge von 6 Liter je Zentner und einer einstündigen Warmbeize von 55°C durchgeführten Versuchsreihen (Tabelle 5). Hier genügen bei Verwendung von Wasser eine 8 bis 16 stündige Vorquellung bei 1°C, eine 2 bis 4 stündige bei 10°C und 20°C und eine 1 bis 2 stündige bei einer Vorquellung von 30°C. Zusatz von Isopropylalkohol steigert die Beizwirkung außerordentlich, jedoch zeigen die Ergebnisse, daß wir zur Vermeidung von Keimschäden die Vorquellung hier nicht verkürzen dürfen, sondern umgekehrt verlängern müssen: bei 1°C auf über 16 Stunden, bei 10°C auf über 8 Stunden, bei 20°C auf 8 Stunden und bei 30°C auf 2 bis 4 Stunden.

Die Frage der optimalen Vorquelldauer hängt also auf das engste von den sonstigen Versuchsbedingungen: Benetzungsmenge, Zusatz von Stoffen (Alkohol), welche die Beizwirkung steigern, Höhe der Beiztemperatur und Dauer der Wärmebehandlung ab. Wichtig ist die Feststellung, daß es tatsächlich Kombinationen von Vorquellung und Beizung gibt, welche in ausreichendem Maße starke Beizwirkung auf den Pilz und Unschädlichkeit für das Saatgut vereinigen, so daß der Anwendung der Warmbenetzungsbeize vom beiztherapeutischen Standpunkt aus keine grundsätzlichen Hindernisse entgegenstehen. Im übrigen bleiben natürlich noch eine ganze Reihe von Einzelfragen, auch praktischer Art, zu klären, bevor wir so weit sind, der Praxis ein ganz bestimmtes Warmbenetzungsverfahren endgültig zu empfehlen.

## VII. Die Wasseraufnahme des Weizenkorns und ihre Bedeutung für die Wirkung der Warmwassertauchbeize.

Die Wasseraufnahme des Weizenkorns in der Warmwassertauchbeize ist bereits in den Arbeiten von Appel und Riehm (1) einer Untersuchung unterzogen. Da hier jedoch nur die Gesamtwasseraufnahme des ganzen Kornes berücksichtigt ist, diese aber nach den Ausführungen der vorigen Abschnitte keinen geeigneten Maßstab für die Beziehungen von Wassergehalt und Beizwirkung abgibt, mußte eine erneute Bearbeitung der Frage vorgenommen werden.

In den folgenden Untersuchungen ist die Gesamtwasseraufnahme der ganzen Körner der Vollständigkeit halber mit bestimmt. Auf die Befprechung dieser Ergebnisse, die im übrigen mit den Feststellungen von Appel und Riehm sowie anderer Autoren gut übereinstimmen, braucht

Tabelle 6.  
Versuche mit Warmwassertauchbeize.  
(Vorquellung und Heißwasserbehandlung)

Die Wasseraufnahme des Weizenkorns und seiner Teile in Abhängigkeit von der Quellungs-temperatur und die Wirkung einer 10 Minuten langen Tauchbeize von 52° auf Triebkraft und Flugbrandbefall.

(Aussaat: Je 2 Parzellen — Kontrolle 4 Parzellen — à 300 Korn.)

Vorquellung		Wasseraufnahme (in % der Trockensubstanz)			Wirkung der Beizung		
		Ganzes Korn <sup>1)</sup>	Embryo	Endosperm	Triebkraft %	Gesunde : kranke Pflanzen	Flugbrand %
Temperatur ° C	Dauer in Stunden						
1°	2	10,66	11,49	9,89	89,5	283 : 93	24,7
	4	12,48	28,65	11,04	83,5	245 : 69	22,0
	8	16,50	36,54	12,99	88,0	275 : 56	16,9
	16	23,48	56,76	18,64	84,5 —	264 : 14	5,0
	32	31,50	64,71	26,22	77,0 —	246 : 0	0
10°	2	12,49	24,97	10,15	85,0 —	242 : 67	21,7
	4	16,45	33,98	12,99	84,0 —	208 : 72	25,7
	8	23,07	50,95	18,77	87,5 —	284 : 3	1,0
	16	34,89	70,33	28,57	87,0 —	218 : 0	0
20°	2	15,79	42,59	12,51	80,5	236 : 51	17,8
	4	21,92	54,19	17,58	82,0	254 : 30	10,6
	8	30,51	68,48	24,84	84,0	276 : 0	0
30°	2	21,96	49,61	17,75	87,0	276 : 43	13,5
	4	29,08	65,03	25,46	88,0	299 : 8	2,6
	8	37,77	82,85	34,18	79,5 —	290 : 0	0
Kontrolle unbehandelt		0	0	0	93,8	720 : 144	20,0

im Hinblick auf die in den früher erwähnten Versuchen gewonnenen Erkenntnisse nicht weiter eingegangen zu werden.

Der Schwerpunkt liegt in den Wasserverhältnissen des Keimlings als dem Sitz des Flugbrandmyzels. Die gleichzeitig durchgeföhrten Triebkraftversuche und Feldversuche zur Bestimmung der Beizwirkung auf den Flugbrandpilz gestatten einen einwandfreien Einblick in die Beziehungen zwischen Wassergehalt des Embryos und Beizwirkung auf Korn und Pilz.

In Tabelle 6 sind Versuche mit der üblichen Warmwassertauchbeize, also mit Vorquellung und anschließender Heißwasserbehandlung zur Durchführung gekommen. Als Vorquelltemperatur sind 1° C, 10° C, 20° C und 30° C gewählt, als Beizbehandlung ein 10 Minuten langes Tauchen in Wasser von 52° C. Die Heißwassertemperatur wurde mit 52° C absichtlich etwas niedrig gewählt, weil es uns weniger auf eine schnelle und rest-

<sup>1)</sup> Getrennte Bestimmung.

Tabelle 7.

## Versuche mit Warmwassertauchbeize (Dauerbehandlung).

Wasseraufnahme des Weizenkorns und seiner Teile, sowie Triebkraft und Flugbrandbefall  
nach verschiedenen langer Tauchbeize von 52°.

(Aussaat: Je 2 Parzellen — Kontrolle 4 Parzellen — à 300 Korn.)

Dauer	Wasseraufnahme (in % der Trockensubstanz)			Wirkung der Beizung		
	Ganzes Korn <sup>1)</sup>	Embryo	Endo- sperm	Triebkraft %	Gesunde kranke Pflanzen	Flugbrand %
0 (Kontrolle)	0	0	0	93,8	720 : 144	20,0
5 Minuten	5,89	20,00	8,36	86,5	250 : 62	19,9
10 "	12,83	25,44	11,11	83,5 —	234 : 46	16,4
20 "	16,86	40,03	13,06	74,5 —	210 : 49	18,9
30 "	20,36	44,14	16,76	75,5 —	216 : 35	13,9
1 Stunde	27,05	56,33	22,24	68,0 — —	132 : 0	0
2 Stunden	35,12	77,04	31,97	13,0 — —	10 : 0	0
4 "	51,79	88,57	44,83	0	—	—

lose Unterdrückung des Flugbrandes als auf die Klarlegung der gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Vorquellung und Beizwirkung ankam, die naturgemäß infolge der besseren Abstufung der Wirkung klarer hervorgetreten, wenn die Heißwasserbehandlung nicht zu stark gewählt wird. Zur Ergänzung der vorstehenden Versuche dienten dann noch die in Tabelle 7 zusammengestellten Versuche mit einem Heißwasserdauerbad von 52° C, aus denen wir ein Bild der Wasseraufnahme bei hohen Temperaturen gewinnen und auch unter extremen Bedingungen die Beziehungen zwischen Wassergehalt der Kornteile und Beizwirkung verfolgen können (Abb 10).

Was zunächst die in Abbildung 10 nochmals graphisch dargestellte Wasseraufnahme des Keimlingsteiles anbetrifft — die Wasserverhältnisse von Gesamtkorn und Endosperm können aus den schon erwähnten Gründen gänzlich beiseite gelassen werden —, so finden wir bei den verschiedenen Quellungstemperaturen von 1° C bis 30° C in Übereinstimmung mit den früher gebrachten Benetzungsversuchen einen Faktor  $Q_{10}$  von ungefähr 2. Eine Wasserzunahme von 50% des Trockengewichtes wird bei 1° C nach fast 16 Stunden, bei 10° C nach 8 Stunden, bei 20° C nach fast 4 und bei 30° C ziemlich genau mit zwei Stunden erreicht. Bei 52° C finden wir eine Wasserzunahme von 50% bei etwa  $\frac{3}{4}$ -ständiger Quellung, so daß also bis zu dieser hohen Temperatur hinauf keine wesentliche Verschiebung des Faktors  $Q_{10}$  vorliegt.

Die Triebkraftbestimmungen geben kein besonders genaues Bild der Keimschäden und sollen deshalb hier nicht weiter besprochen werden. Für die Erzielung deutlicherer Keimschäden wäre die Anwendung einer hohen Beiztemperatur notwendig gewesen, von der wir aber abgesehen haben, weil es uns, wie wir schon weiter oben ausführten, in erster

<sup>1)</sup> Getrennte Bestimmung.

Linie auf die genauere Feststellung der Beizwirkung auf den Flugbrandpilz ankam.

Die in Tabelle 6 zusammengestellten Versuchsreihen zeigen, daß bei allen Quellungstemperaturen durch die gleiche Heißwasserbehandlung von 10 Minuten 52° schließlich Flugbrandfreiheit erzielt wird, wenn man die Vorquelldauer den jeweiligen Quellungstemperaturen anpaßt: bei 0° nach 32 Stunden, bei 10° nach 16 Stunden, bei 20° nach 8 und bei 30°

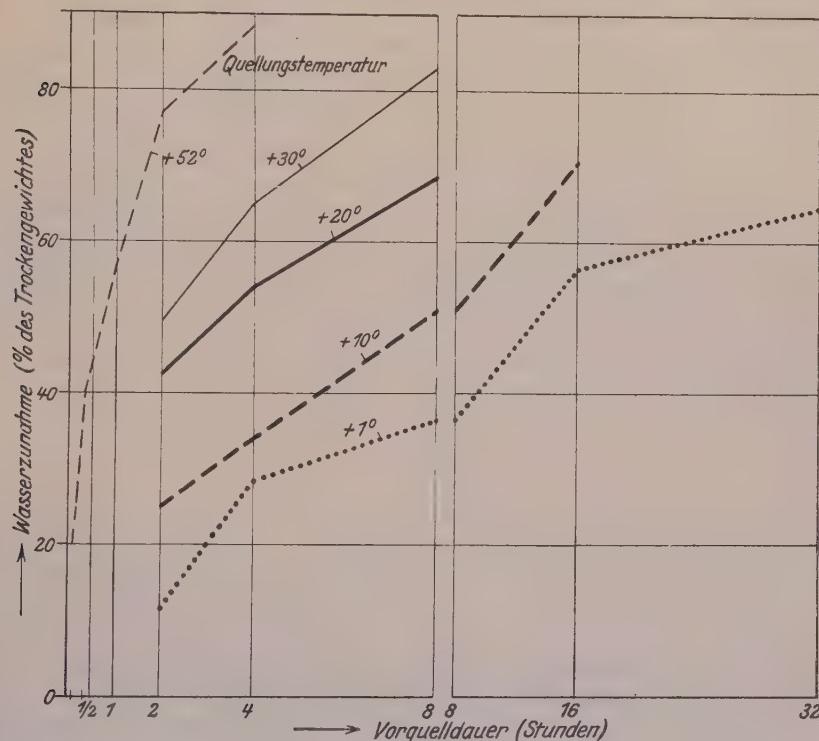


Abb. 10.

Wasserzunahme des Embryo (in Prozenten der Trockensubstanz)

nach verschieden langer Quellung im Tauchverfahren.

(Versuchsunterlagen siehe Tabelle 6 und 7.)

nach schätzungsweise 5—6 Stunden. Die bei Dauerquellung (Tabelle 7) erhaltenen Werte lassen sich nicht unmittelbar mit den vorstehenden Versuchen, in denen die Wärmebehandlung gleichmäßig 10 Minuten 52° betrug, in Vergleich setzen; hier genügte eine einstündige Wärmebehandlung zur Unterdrückung des Flugbrandbefalles.

In den mit Vorquellung durchgeführten Versuchsreihen der Tabelle 6 beträgt der Faktor  $Q_{10}$  auch für die Unterdrückung des Flugbrandbefalles gleichmäßig ziemlich genau 2, hat also den gleichen Wert wie der Faktor  $Q_{10}$  für die Wasserzunahme des Embryos während der Vorquellung. Wenn wir dann weiter die Wasserzunahme des Embryos

während der verschiedenen Vorquellungszeiten bei den einzelnen Vorquelltemperaturen in Vergleich setzen, sehen wir, daß die Beizwirkung auf den Flugbrandpilz ziemlich genau der während der Vorquellung vom Embryo aufgenommenen Wassermenge entspricht; und zwar muß die Wasserzunahme des Embryos etwa 65—70% des Trockengewichtes betragen, wenn eine Heißwasserbeize von 10 Minuten 52° den Flugbrand beseitigen soll.

Damit ist bewiesen, daß die Wirkung der Vorquellung ausschließlich in der Einstellung einer der betreffenden Heißwasserbehandlung angepaßten Wasserquellung des Keimlings und des in diesem vorhandenen Flugbrandmyzels besteht. Eine besondere spezifische Wirkung der Quellungstemperaturen auf das Flugbrandmyzel im Sinne von Appel und Riehm (1) besteht nicht; höhere Vorquelltemperaturen wirken nicht deshalb in kürzerer Zeit als tiefe, weil sie das ruhende Myzel eher zur Keimung bringen, sondern ausschließlich durch die Beschleunigung der Wasseraufnahme.

Für die Warmwassertauchbeize läßt sich also der jeweilige Gesamtwassergehalt des Embryos als Maßstab der Beizwirkung benutzen. In dieser Hinsicht liegen also gewisse Unterschiede im Vergleich zur Warmbenetzungsbeize vor, wo bei der Beurteilung der Beizwirkung auf den Flugbrandpilz der Wassergehalt der an das Endosperm angrenzenden Embryoteile als besonders wichtig in den Vordergrund gestellt oder doch zum mindesten berücksichtigt werden muß.

### VIII. Hauptergebnisse.

1. Die Benetzungsbeize ist besonders geeignet, die Wasseraufnahme des Weizenkornes und seiner Teile in Abhängigkeit von der Temperatur im einzelnen zu verfolgen. Die getrennte Feststellung der Wasserkurve in Embryo und Endosperm bestätigt, daß die Wasseraufnahme in erster Linie im Embryo vor sich geht. Da es sich bei der Benetzungsbeize um begrenzte Wassermengen handelt, wird das Quellungsmaximum des Embryos nicht aufrecht erhalten; vielmehr kommt es wieder zu einer Abnahme durch allmäßliches Abwandern des aufgenommenen Wassers ins Endosperm.
2. Wasseraufnahme des Embryos und Wasserabgabe ins Endosperm werden durch die Temperatur stark beeinflußt. Der Faktor  $Q_{10}$  hat für beide Vorgänge annähernd den Wert 2.
3. Die durch eine anschließende Wärmebehandlung bedingten Keimschäden benetzten Getreides werden ausschließlich durch den Wassergehalt der Keimlingsteile bestimmt, wobei auch den Wasserverschiebungen während der Wärmebehandlung selbst Rechnung getragen werden muß. Da der Wassergehalt zunächst ansteigt und dann wieder abfällt, haben wir bei kurzen und langen Quellungszeiten geringere Keimschäden als bei mittleren; der

Kurvenverlauf wird im einzelnen durch die Höhe der Vorquelltemperatur bestimmt.

4. Im Gegensatz zum Keimverhalten des gebeizten Weizens liegt die höchste Wirkung der Warmbenetzungsbeize auf den Flugbrandpilz nicht bei den festgestellten maximalen Wasserwerten des Embryos, sondern bei einer längeren Vorquelldauer, die bereits wieder ein deutliches Absinken des Wassergehaltes auf Grund der Wasserabwanderung ins Endosperm zur Folge hat. Die Erklärung für diese zunächst überraschende Verschiedenheit der Beizwirkung auf Keimverhalten und Flugbrandbefall muß entweder in den höheren osmotischen Kräften des Pilzmyzels gesucht werden oder besteht darin, daß es beim Flugbrandmyzel vor allem auf die ausreichende Wassersättigung des an das Endosperm anstoßenden Keimlingsteils ankommt; diese muß aber später erreicht werden, als die Gesamtwasserzunahme des Embryos angibt.
5. Die verschiedene Lage der bezüglich der Beizwirkung auf Korn und Flugbrandpilz zu beobachtenden Maxima bzw. Optima der Vorquelldauer ist beiztherapeutisch günstig, da sie die Wahl einer Vorquelldauer gestattet, welche bei einer bestimmten, an die Benetzung und Vorquellung anschließenden Wärmebehandlung die Unterdrückung des Flugbrandes zu einem Zeitpunkt ermöglicht, bei dem die Schädigungswirkungen der Behandlung auf das Korn ihr Maximum deutlich überschritten haben. Die Dauer der für die Flugbrandbekämpfung bei gleichzeitiger Harmlosigkeit der Beizung in Betracht kommenden Vorquellung hängt in weitem Umfange von der Wahl der Vorquelltemperatur ab.
6. Auch bei der Warmwassertauchbeize haben wir für die verschiedenen Vorquelltemperaturen einen Faktor  $Q_{10} = 2$ , wenn wir die Wasserzunahme des Embryos zugrunde legen.
7. Die Wirkung der Vorquelltemperatur hängt auch bei der Warmwassertauchbeize ausschließlich von dem während der Vorquellung erreichten Quellungsgrad des Keimlings ab. Da es beim Tauchverfahren wegen des dauernden Nachschubs von Wasser nicht zu einem Sinken des Wassergehaltes im Embryo durch Wasserabwanderung ins Endosperm kommt, auch lokale Verschiedenheiten des Wassergehaltes in den einzelnen Teilen des Embryos nicht mehr auftreten können, sind die Beziehungen zwischen Wassergehalt als Folge verschiedener Vorquelldauer und Vorquelltemperatur einfacher als in der Benetzungsbeize.
8. Insbesondere steht die Wirkung der anschließenden Heißwasserbehandlung auf den Flugbrandpilz in einfachen Beziehungen zu den im Embryo als Folge der verschiedenartigen Vorquellung gefundenen Wasserwerten; bei einer Heißwasserbeize von 10 Minuten

52° C müssen 65 bis 70 Teile Wasser (als Prozent der Trockensubstanz) vom Embryo aufgenommen sein, wenn volle Flugbrandbeseitigung erzielt werden soll. Bei der Heißwassertauchbeize geht also im Gegensatz zur Warmbenetzungsbeize die Beizwirkung auf den Flugbrandpilz den bei Wasserbestimmungen des Embryos gefundenen Wasserwerten unmittelbar parallel.

9. Sowohl bei der Warmbenetzungsbeize wie bei der Warmwassertauchbeize wirkt die Vorquelltemperatur ausschließlich auf dem Umweg einer Beeinflussung der Geschwindigkeit und des Ablaufes der Quellungsvorgänge im Embryoteil des Kornes. Eine spezifische Temperaturwirkung auf die Erweckung des ruhenden Flugbrandmyzels im Sinne von Appel und Riehm liegt nicht vor.

---

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft), deren Entgegenkommen die Durchführung auch der vorstehenden Untersuchungen ermöglichte, sei an dieser Stelle erneut gedankt.

#### IX. Schriftenverzeichnis.

1. Appel, O. und Riehm, E. Die Bekämpfung des Flugbrandes von Weizen und Gerste. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Band VIII, 1911, S. 343—426.
2. Gaßner, G. Beiträge zur Frage der Lichtkeimung. Zeitschrift für Botanik, 7, 1915, S. 609—661.
3. Gaßner, G. Biologische Grundlagen der Prüfung von Beizmitteln zur Steinbrandbekämpfung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Band XI, 1923, S. 339—372.
4. Gaßner, G. Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung. Phytopathologische Zeitschrift, Band V, 1933, S. 407—433.
5. Gaßner, G. und Kirchhoff, H. Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize. Phytopathologische Zeitschrift, Band VI, 1933, S. 453—468.
6. Gaßner, G. und Kirchhoff, H. Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Phytopathologische Zeitschrift, Band VII, 1934, S. 303—314.
7. Gaßner, G. und Kirchhoff, H. Versuche zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes mittels Benetzungsbeize. II. Mitteilung. Phytopathologische Zeitschrift, Band VII, 1934, S. 271—284.
8. Lang, W. Die Blüteninfektion beim Weizenflugbrand. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. II. Abteilung, Band 25, 1910, S. 86—100.
9. Schroeder, H. Über die selektiv permeable Hülle des Weizenkorns. Flora, N. F., Band 2, 1922, S. 172.
10. Störmer, K. Die Bekämpfung des Gersten- und Weizenflugbrandes. Deutsche Landw. Presse, 38, 1911, S. 1006 und S. 1017.

Die sonstigen einschlägigen Arbeiten über Flugbrandbekämpfung und über Wasseraufnahme quellender Getreidekörner sind bereits in unseren früheren Veröffentlichungen berücksichtigt, worauf an dieser Stelle kurz verwiesen sei.

---

Aus dem Institut für Kolloidforschung zu Frankfurt a. M.

## Versuche zur Aufklärung des Mechanismus der „Kupferprobe“ zur Feststellung des Kartoffelabbaus.

Von

H. Bechhold und F. Erbe.

Mit 4 Textabbildungen.

Inhalt: A. Fragestellung. — B. Experimenteller Teil: I. Das System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff in der Kartoffelknolle: 1. Tyrosinase; 2. Die Melaninbildner; 3. Sauerstoff. II. Mitwirkung von Mikroorganismen bei der Kupferprobe? III. Wirkung von Kupfer auf Kartoffelsubstanz: 1. Die Auflösung von metallischem Kupfer in Kartoffelsubstanz; 2. Chemische Wirkungen von gelöstem Kupfer. IV. Wirkung mechanischer Einflüsse auf die Knolle: 1. „Kupferprobe“ mit indifferenten Körpern. 2. Druckwirkung. 3. Wirkung der Zellzerstörung. — C. Schlußfolgerungen. — D. Zusammenfassung. — E. Literaturnachweis.

### A. Fragestellung.

Gelegentlich einer Untersuchung über die kolloide Struktur der Kartoffelknolle arbeiteten Bechhold und Erbe (1) ein Verfahren aus, um innerhalb 24 Stunden den Abbaugrad einer Kartoffelknolle erkennen zu können, d. h. um voraussagen zu können, ob die nach der Auspflanzung dieser Knolle aus ihr entstehende Pflanze gesund sein wird, oder ob sie mit einer der für den Kartoffelabbau charakteristischen Krankheitserscheinungen behaftet sein dürfte.

Das Verfahren, „Kupferprobe“ genannt, besteht kurz darin, daß ein Streifen von blankem Kupferblech in die zu untersuchende Knolle eingesetzt und die so vorbehandelte Knolle in einer feuchten Kammer zuerst acht Stunden lang bei 37° C und anschließend 16 Stunden lang bei 18 bis 20° C gehalten wird. Danach wird das Kupferblech wieder herausgezogen und die Knolle in der Richtung des Einstiches senkrecht zu der Ebene, in der das Blech lag, in zwei Teile zerschnitten. Auf der Schnittfläche ist danach zu beiden Seiten an den Einstichkanal anschließend eine schmale oder breite Gewebezone von meist roter, brauner oder schwarzer Farbe zu sehen. In der zitierten Arbeit war angenommen worden, daß die durchschnittliche Breite dieser veränderten Zone ein Maß ist für den Abbaugrad der Knolle. An dem uns zur Verfügung stehenden beschränkten Versuchsmaterial konnten wir diese Beziehung damals wahrscheinlich machen.

H. Kah o (2) in Tartu (Estland) hat die Brauchbarkeit der Kupferprobe an 13 Sorten (gemeint sind wohl Herkünfte) geprüft. Er fand zwar

die Verfärbungszonen im allgemeinen schmäler als wir, was eine Eigentümlichkeit der estländischen Kartoffel sein kann, aber die Unterschiede zwischen den — aus den Messungen an je zirka 30 Knollen errechneten — Indizes der einzelnen Sorten waren sehr groß, und zwar hatten die vitalen Sorten beträchtlich höhere Indizes als die abgebauten.

Indizes von 10 gesunden Sorten . . .	63—273
"      " 3 abgebauten "	13— 20.

Diese Ergebnisse sind also im wesentlichen eine Bestätigung der unsrigen.

Inzwischen hat M. Klinkowski von der Biologischen Reichsanstalt Berlin-Dahlem an einem sehr großen Versuchsmaterial die Frage geprüft (3), ob wirklich die Ergebnisse der Kupferproben und der Pflanzversuche stets übereinstimmen. Dabei fand er, daß diese Übereinstimmung bei einigen Sorten für die Mehrzahl der untersuchten Knollen vorhanden war, bei anderen Sorten dagegen fehlte. Er schloß daraus, daß sich über den zweifellos vorhandenen Einfluß des Abbaugrades auf den Ausfall der Kupferprobe ein herkunftsbedingter Einfluß überlagert, der nichts mit dem Abbau zu tun hat. Deshalb sei die Kupferprobe in der vorliegenden Form für praktische Zwecke noch nicht verwendbar, sondern könne vorläufig nur zur raschen behelfsmäßigen Orientierung Verwendung finden.

Die Kupferprobe wurde von uns rein empirisch aufgefunden, und wir wissen nicht, wieviele und welche Faktoren bei den beteiligten, ihrem Wesen nach sicher sehr komplexen Vorgängen mitwirken. Ein genauer Einblick in den Mechanismus der Kupferprobe wäre deshalb von größter Wichtigkeit, denn nur dann besteht Aussicht, eine theoretisch begründete Abänderung des bisherigen Verfahrens der Kupferprobe zu finden, bei der nicht auch der Herkunftseinfluß, der nichts mit dem Abbau zu tun hat, zur Auswirkung kommt.

Diesem Ziel eines besseren Verständnisses des Mechanismus diente auch eine Untersuchung von Bechhold, Gerlach und Erbe (4), die sich speziell mit der Rolle des Kupfers bei dem Verfahren beschäftigte. Wir haben aber inzwischen weitere Versuche unternommen, mit dem Ziel, einen tieferen Einblick in das Problem zu gewinnen; das dabei gesammelte experimentelle Material und die daraus zu ziehenden Schlüsse seien hier wiedergegeben.

Die vorliegende Untersuchung erstrebt die Beantwortung der Frage: Wie kommen die starken und auffallenden Gewebeveränderungen unter der Einwirkung der Kupferprobe zustande?

Wir wollen diese typischen Veränderungen der gesunden („vitalen“) Knollen noch einmal kurz kennzeichnen: Die veränderte Gewebezone ist von der unveränderten stets durch eine scharfe Grenze geschieden. Nach der geometrischen Form dieser scharfen Umrißlinie lassen sich drei Typen unterscheiden, die in der folgenden schematischen Darstellung (Abb. 1) gezeigt sind.

Unter den gezeichneten Typen ist der Typ C der häufigste; Typ B wurde meist bei den Sorten *Parnassia* und *Juliniere*, Typ A bei Odenwälder Blaue beobachtet.

Die augenfälligste Veränderung der erwähnten „veränderten Gewebszone“ betrifft die Farbe, die entweder sofort nach dem Aufschneiden der Knolle oder erst einige Zeit danach tief schwarzbraun ist. Gleichzeitig hat diese verfärbte Zone weitaus geringeren elektrischen

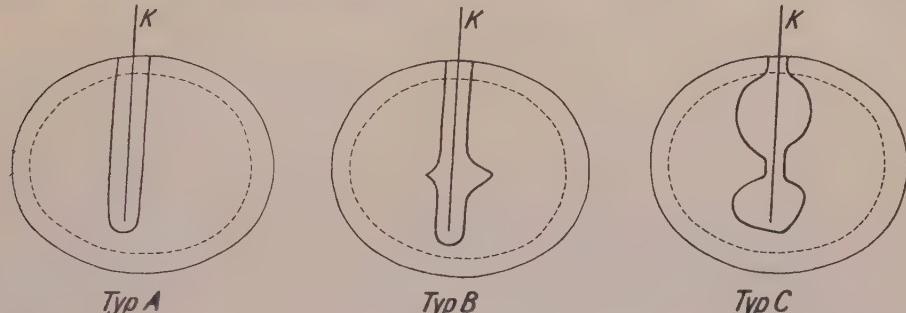


Abb. 1.

Die gestrichelten Linien sind auf der Schnittfläche jeder Knolle zu sehen und gehören der Knollenstruktur an. Die ausgezogene Linie ist die Trennungslinie zwischen dem unter der Kupfereinwirkung veränderten und dem unveränderten Gewebe. Die Linie K stellt die Lage des eingesteckten Kupferblechs dar.

Widerstand, eine stark verminderte mechanische Festigkeit und geringere Elastizität. Auch verdunstet aus diesem veränderten Gewebe, wenn es an der Luft liegt, das Wasser schneller als bei einem nicht veränderten Gewebe, was sich an der Deformation dieses Gewebes zeigt.

Folgende Abbildung stellt diese verschieden rasche Austrocknung vergleichend bei einer Vital- und einer Abbau-Knolle (letztere als Beispiel

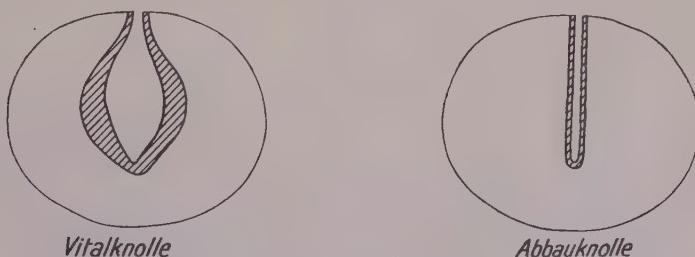


Abb. 2.

einer Knolle, von deren Gewebe nur ein geringer Teil die in Frage stehende Veränderung erlitten hat) schematisch dar: Die Knollen waren nach der Kupferprobe aufgeschnitten worden und hatten dann etwa 24 Stunden offen an der Luft gelegen.

Auf diese starke Austrocknung macht auch Klinkowski (3) aufmerksam.

Schließlich ist in dem veränderten Teil des Gewebes die Diffusionsgeschwindigkeit für gelöste Stoffe erheblich größer als in unverändertem Gewebe, worüber unten noch berichtet werden wird.

Von einer dieser Veränderungen, nämlich der Verfärbung, können wir von vornherein schon einige Aussagen machen. Es ist schon lange bekannt, daß die Kartoffelknolle ein Oxydationsferment, die Tyrosinase (vergl. C. Oppenheimer, 5) enthält, die die Fähigkeit hat, Tyrosin und ähnliche Körper mit Hilfe von Luftsauerstoff zu braunen Farbstoffen, sogenannten Melaninen zu oxydieren (vergl. z. B. O. Fürth, 6, H. S. Raper, 7, H. Haehn, 8, H. Haehn und J. Stern, 9). Ferner ist bekannt, daß in der Kartoffelknolle Substanzen vorhanden sind, die durch Tyrosinase zu Melaninen oxydiert werden können (vergl. z. B. A. v. Szent-Györgyi, 10); unter diesen befinden sich sehr wahrscheinlich Tyrosin, vielleicht aber noch andere, z. B. Brenzkatechin. Wir wollen die Gesamtheit dieser oxydablen Stoffe als Melaninbildner (Melanogene) bezeichnen.

Wenn aber jede Knolle sowohl Melanogen als auch Oxydase enthält, so erhebt sich die Frage: Warum wird nicht jede Kartoffelknolle normalerweise braun? Wenn die Schale als völlig undurchlässig für Luftsauerstoff gelten könnte, so wäre der Sauerstoffmangel in der Knolle als Ursache der ausbleibenden Melaninbildung zu betrachten. In Wahrheit ist aber die Schale nicht völlig undurchlässig für  $O_2$ , trotzdem bleibt das Gewebe auch dicht unter der Schale hell. Hier sind zwei Möglichkeiten denkbar:

1. Nach der, für andere Pflanzenteile entwickelten, Vorstellung von Schmalfuß (11, 12) verbrauchen die normalen Lebensprozesse den Sauerstoff rascher und begieriger als die Melanogene. Nur wenn entweder die Durchtrittsgeschwindigkeit des Sauerstoffes so stark steigt, daß ihn diese Lebensprozesse nicht mehr völlig bewältigen können, oder wenn diese normalen Stoffwechselprozesse durch äußere Eingriffe gehemmt werden<sup>1)</sup>, kann die Melaninbildung beginnen. Die normalen Lebensprozesse wirken ja deshalb der irreversiblen Melaninbildung entgegen, weil die Melanogene und ihre reversiblen ersten Oxydationsprodukte eine wichtige Aufgabe im Stoffwechsel als Sauerstoffüberträger haben (vergl. Friedheim, 13); jede Schwächung der vitalen Fähigkeiten aber begünstigt die Melaninbildung, und im Falle des Todes des betreffenden Gewebes wird, solange die weniger empfindliche Oxydase nicht geschädigt ist, aller anwesende Sauerstoff zur raschen Melaninbildung verbraucht.

Nach dieser Vorstellung lassen sich die beiden folgenden Beobachtungen erklären:

a) Eine durch einen scharfen Schnitt angeschnittene Knolle färbt sich meist nur schwach rosa. Ein solcher Schnitt verletzt nur wenige Zellen;

<sup>1)</sup> Noch andere von Schmalfuß herangezogene Möglichkeiten, z. B. Steigerung der Fermentkonzentration durch Austrocknen, kommen bei der Kupferprobe nicht in Betracht.

schon die unverletzten Nachbarzellen können den durch die intakten Zellwände nur langsam eindiffundierenden  $O_2$  unschädlich machen.

b) Eine gründlich zu Brei zerriebene Knolle wird bei Luftzutritt rasch braun und schwarz. Jetzt sind so viele Zellen zerstört und ist die  $O_2$ -Konzentration in allen Teilen des Gewebes so groß, daß dieser Sauerstoff nicht mehr durch die verminderte Zahl lebensfähiger Zellen bewältigt werden kann.

2. Eine zweite Möglichkeit für das Hellbleiben normaler Kartoffelknollen wäre die Vorstellung, daß in der Knolle Ferment und Substrat irgendwie an ihrer gegenseitigen Einwirkung gehindert, z. B. räumlich getrennt gelagert oder durch lockere Bindung an einen anderen Körper inaktiviert sind (vergl. z. B. die Vorstellung von M. Mühlbauer, 14), und daß dieses Hindernis erst durch mechanische oder chemische Zerstörung der Zellstruktur aufgehoben wird. Auch mit dieser Vorstellung sind die obigen Beobachtungen vereinbar.

Die bei der Kupferprobe entstehenden dunkelbraunen Farbstoffe sind offenbar Melanine, und es war uns von Anfang an klar, daß das Wesen der Kupferprobe in einer starken Einwirkung auf dieses System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff bestehen muß. Dagegen war von vornherein nicht zu entscheiden, wie diese Einwirkung vor sich geht: dieser Frage ist also unsere Untersuchung gewidmet.

Man konnte z. B. daran denken, daß Mikroorganismen, die sich auf der Schale befinden, durch das Hineinstechen des Kupferblechs in die Knolle verschleppt würden und dort die Ursache der Veränderungen darstellten. Es konnte aber auch eine chemische Einwirkung des in die Knolle gebrachten Kupfers verantwortlich sein, und schließlich konnten die mit dem Verfahren verbundenen mechanischen Eingriffe (Verletzung der Gewebe, Druck) als Ursache in Frage kommen.

Dementsprechend hatte die vorliegende Untersuchung die vier folgenden Hauptfragen zu beantworten:

1. Wie ist das System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff in der Knolle beschaffen, und wie ist es von dem Ort in der Kartoffelknolle, von der Sorte und von der Vitalität abhängig?

2. Ist ein bakterieller Eingriff in dieses System bei der Ausführung der Kupferprobe festzustellen?

3. Ist ein chemischer Eingriff des Kupfers in dieses System festzustellen, und hängt er eventuell von der Vitalität der Knolle ab?

4. Ist eine Wirkung der bei der Kupferprobe stattfindenden mechanischen Eingriffe in die Kartoffelknolle auf dieses System festzustellen, und hängt sie eventuell von der Vitalität der Knolle ab?

## B. Experimenteller Teil.

### I. Das System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff in der Knole.

#### 1. Tyrosinase.

##### a) Isolierung.

Um Tyrosinase aus Kartoffelsubstanz zu isolieren, verwendeten wir zunächst Kartoffeln beliebiger Herkunft und verarbeiteten sie nach dem Vorgange von R. Chodat (15), aber unter Verwendung von Methyl- statt Aethyl-Alkohol, in folgender Weise: Die Kartoffelschalen wurden mit etwas Methanol angefeuchtet und durch die Fleischmaschine gedreht. Der erhaltene Brei wurde durch ein Tuch gepreßt und ergab einen schokoladebraunen Saft. Ein Volumen dieses Saftes wurde in drei Volumen Methanol eingegossen; der sich abscheidende Niederschlag wurde mit Methanol gewaschen und noch feucht (teigig) mit 0,4 Volumen Wasser über Nacht stehen gelassen. Danach wurde filtriert und die klare, braune Lösung diente, mit einigen Tropfen Toluol versetzt, als Tyrosinasepräparat.

##### b) Wirkung der Tyrosinase und Methode der Gehaltsbestimmung.

Wenn von dieser Fermentlösung 1—3 Teile zu 100 Teilen von einer der folgenden wässrigen Lösungen gegeben wurden und die Mischungen blieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur in offenen Reagenzröhren stehen, so färbten sie sich in folgender Weise:

1 % Phenol . . . . .	braun
1/2 % Phenol + 1/2 % Glykokoll . . .	dunkel-karminrot
1 % Glykokoll . . . . .	farblos
1 % Brenzkatechin . . . . .	gelb
1 % Brenzkatechin + 1 % Glykokoll . .	lachsrot (sehr rasch)
1 % Tyrosin + 0,06 % Soda . . . . .	hellbraun

Die Fermentlösung in Zusätzen von 1—3 % greift also Tyrosin nur sehr langsam an, dagegen wirkt sie in 20 %igem Zusatz stärker, wie folgende Tabelle zeigt, bei der Tyrosin mit verschiedenen Alkalizusätzen geprüft wurde:

Tabelle 1.

	Farnton bei Zimmertemperatur nach	
	3 Stunden	2 Tagen
1 % Tyrosin ohne Zusatz (Aufschwemmung)	hell lachsrot	purpurbraun
1 % Tyrosin + 0,015 % Soda		
1 % Tyrosin + 0,03 % Soda	violettblau	dunkel-schokoladenbraun
1 % Tyrosin + 0,045 % Soda		
1 % Tyrosin + 0,06 % Soda (Lösung)		

Weitaus am empfindlichsten zum Nachweis der Tyrosinase erwies sich eine Mischung, die 1 % Brenzkatechin und 1 % Glykokoll enthielt (abgekürzt Br.-Gl.). Sie färbt sich bei Zugabe stärkerer Fermentlösungen in wenigen Sekunden tiefrot und läßt, nach entsprechend längerer Zeit, noch die Anwesenheit sehr geringer Fermentmengen erkennen. Von

unbekannten Fermentlösungen wurden zwecks Nachweis der Tyrosinase 0,3—0,5 ccm zu 1 ccm dieser Mischung zugesetzt.

Tyrosin (1% mit 0,4% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) wurde ebenfalls in dem angegebenen Zugabeverhältnis (0,3 bis 0,5 ccm Fermentlösung + 1 ccm Tyrosinlösung) zum Nachweis benutzt; es färbt sich braun, spricht aber erst bei viel wirksameren Fermentpräparaten und meist nur bei 37°C an.

### c) Räumliche Verteilung in der Knolle.

Um festzustellen, ob die Tyrosinase in einer Kartoffelknolle gleichmäßig verteilt ist, wurden drei Knollen der Sorte „Erdgold, Hauslach (Vital)<sup>1)</sup>“ in folgende drei Fraktionen von je 45 g zerteilt:

1. Schale und etwas Gewebe außerhalb des Gefäßbündelringes (Rinde).
2. Gefäßbündelring mit beiderseits etwa 2 mm anschließendem Gewebe.
3. Markparenchym.

Nach dem Zerstoßen im Porzellanmörser wurde nach der Seite 264 beschriebenen Methode aus jeder Fraktion eine Fermentlösung gewonnen. Die Prüfung auf Tyrosinase ergab:

Tabelle 2.

	Mit Tyrosin		Mit Brenzkatechin-Glykokoll	
	3 Stunden bei 37°C	danach 16 Stunden bei 20°C	3 Stunden bei 37°C	danach 16 Stunden bei 20°C
Rinde . . . . .	dunkel-schoko- ladenbraun	tief- schwarzbraun	dunkel- rotbraun	
Gefäße . . . . .	mittelbraun	schwarzbraun	tiefrot	noch etwas vertieft
Mark . . . . .				

Die Rinde der Knolle enthält also mehr Tyrosinase als der Gefäßbündelring und das Mark. Letztere unterscheiden sich nicht im Tyrosinasegehalt.

Der Versuch wurde wiederholt mit je zwei Knollen von

Erdgold Hauslach (Vital),  
Parnassia (Abbau),  
Juliniere (Abbau).

Hierbei wurde auf die verschiedene Farbe der nach dem Aufschwemmen der Methanolniederschläge in Wasser erhaltenen Breie und der daraus durch Filtration erhaltenen Fermentlösungen geachtet. Wir führen hier nur das Ergebnis der Fermentprüfung mit Brenzkatechin-Glykokoll an:

<sup>1)</sup> Alle Kartoffeln wurden geliefert von der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem. „Erdgold Hauslach (Vital)“ bedeutet, daß die betreffende Sendung der Sorte „Erdgold“ (Herkunft: Hauslach) von der Biologischen Reichsanstalt mit der Angabe versehen war, es handle sich überwiegend um nicht abgebauten Knollen. Entsprechend bedeutet der Vermerk „Abbau“ bei anderen Sorten, daß diese Knollen von der Biologischen Reichsanstalt als überwiegend abgebaut geschickt waren.

Tabelle 3.

		Farbe der		Fermentprüfung mit Brenzkatechin- Glykokoll; Farbe nach 4 Stunden bei Zimmer- temperatur
		Breie	Fermentlösung	
Erdgold Hauslach (Vital)	Rinde	schokoladen- braun	dunkelbraun	tief dunkel- rotbraun
	Gefäße	dunkelgrau	hellbraun	dunkelrot
	Mark	dunkelblaugrau	hellbraun	hellrosa
Parnassia (Abbau)	Rinde	hell- bis mittelbraun	mittelbraun	hellrot
	Gefäße	dunkelgrau bis blaugrau	hellbraun	dunkelrot
	Mark	mittelgrau	hellbraun	mittelrot
Juliniere (Abbau)	Rinde	hellbraun	hellbraun	mittelrot
	Gefäße	mittel- bis hellgrau	gelblich	mittelrot
	Mark	mittel- bis hellgrau	hellbraun	hellrot

Hier ist der Fermentgehalt bei:

Erdgold . . . . Rinde > Gefäße > Mark

Parnassia . . . . Gefäße > Mark > Rinde

Juliniere . . . . Rinde = Gefäße > Mark.

Die Tabelle 3 bestätigt den Befund aus Tabelle 2 für die Knollen der Sorte „Erdgold“. — Die beiden Knollen von Parnassia verhalten sich dagegen gerade umgekehrt. Bei den beiden Knollen von Juliniere zeigt sich zwischen Rinde und Gefäßbündelring kein Unterschied, während das Markparenchym fermentärmer ist.

Als Regel kann wahrscheinlich, entsprechend früheren Beobachtungen, gelten, daß die Rinde am fermentreichsten, das Markparenchym am fermentärmsten ist; doch scheint ein großer sortenspezifischer Einfluß zu bestehen.

Zum gleichen Ergebnis kommen im wesentlichen Wieland und Sutter (16), die die Oxydasewirkung durch Messung des bei der Dehydrierung von Diphenolen verbrauchten Sauerstoffs bestimmen. Sie finden, daß sich verschiedene Kartoffelsorten in ihrer absoluten Oxydaseaktivität sehr unterscheiden (Unterschiede von 500 %), und daß im allgemeinen die Schalen die Oxydase in der vierfachen Aktivität enthalten gegenüber der schalenfreien Knolle.

## d) Beziehung zwischen Fermentgehalt und Vitalität.

Aus Tabelle 3 läßt sich folgender, allerdings sehr bedingter Schluß ziehen: Der Fermentgehalt ist bei

Rinde . . . . .	Erdgold > Juliniere > Parnassia
Gefäße . . . . .	Erdgold = Parnassia > Juliniere
Mark . . . . .	Parnassia > Juliniere > Erdgold

Mittel über die Gesamtknolle . . . . . Erdgold (Vital) > Parnassia (Abbau) > Juliniere (Abbau)

Index der Kupferprobe <sup>1)</sup>	200	180	74
-------------------------------------	-----	-----	----

Daraus würde folgen, daß der Fermentgehalt der Gesamtknolle eine gewisse Beziehung zur Vitalität zeigt. Es wurden damals jedoch von jeder Sorte nur zwei Knollen verwandt, von denen nicht bekannt war, ob ihr Gesundheitszustand dem Sortendurchschnitt entsprach. Deshalb wurden bei einem zweiten Versuch eine Reihe von Knollen ohne räumliche Unterteilung auf ihren Fermentgehalt untersucht, wobei aber jede Knolle halbiert wurde. Nur die eine Hälfte wurde (mit der Schale) zur Tyrosinasebestimmung verwandt, die andere wurde nach Verkleben der Schnittfläche mit paraffiniertem Papier zur Kupferprobe verwendet.

Nun hat zwar Klinkowski (3) gefunden, daß zwei getrennt mit der Kupferprobe geprüfte Hälften der gleichen Knolle verschiedene Reaktionen geben können. Jedoch hatten wir keine andere Möglichkeit, eine Aussage über die Vitalität der betreffenden Knolle zu erhalten.

Die Prüfung mit Br.-Gl. geschah halbquantitativ, indem von jedem Filtrat sechs Mischungen hergestellt wurden (offene Reagenzgläser):

Tabelle 4.

Nummer	1	2	3	4	5	6
ccm Filtrat . . . . .	0,8	0,4	0,2	0,1	0,05	0,025
ccm Wasser . . . . .	0	0,4	0,6	0,7	0,75	0,775
ccm Brenzkatech.-Glykokoll	je 0,8					

Die Farben wurden nach Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur verglichen; auf diese Weise konnten relative Zahlenwerte durch Schätzung erhalten werden.

Die Prüfung mit Tyrosin geschah nur bei 25 % igem Zusatz und nach Stehen über Nacht bei 37 ° C qualitativ.

Die Ergebnisse der Fermentbestimmungen sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Sie zeigt nur in ihren Extremen einen Parallelismus zwischen dem Ausfall der Kupferprobe an einer Hälfte einer Knolle und

<sup>1)</sup> Nach Messungen, die wir gleichzeitig an anderen Knollen der gleichen Herkunft ausführten.

Tabelle 5.

		Relativer Tyrosinasegehalt bestimmt mit		Vitalität bestimmt mit der Kupferprobe
		Brenzkatechin-Glykokoll	Tyrosin	
Erdgold (Klein Ziethen)	1. Knolle	1		+
Erdgold (Hauslach)	1. Knolle	3		+++
Erdgold (Klein Ziethen)	2. Knolle	5	++	+/++
Erdgold (Hauslach)	2. Knolle	5	+	+++
Direktor Johannsen (Dahlem) <sup>1)</sup>		4	+++	0/+
Direktor Johannsen (Mechow)	1. Knolle	4		+++
Direktor Johannsen (Mechow)	2. Knolle	7		+++

dem Fermentgehalt der anderen Hälfte. Übrigens laufen die Ergebnisse der beiden Fermentprüfungen mit Tyrosin und Br.-Gl. auch nicht unter sich parallel.

Wenn man dazu nimmt, daß (vgl. S. 267) zwei Hälften einer Knolle auf die Kupferprobe verschieden reagieren können, so kann man aus diesen Ergebnissen nicht mit Sicherheit auf einen Parallelismus zwischen Fermentgehalt und Kupferprobe und deshalb auch nicht zwischen Fermentgehalt und Vitalität schließen.

Nach Abschluß dieser Untersuchungen erschien eine Arbeit von Pfankuch und Lindau (17), in der die gleiche Frage nach anderen Methoden und an größerem Knollenmaterial geprüft wurde. Pfankuch und Lindau finden, daß zwischen Vital- und Abbauknollen keine grund-sätzliche Verschiedenheit in bezug auf die Aktivität der Oxydase besteht.

## 2. Die Melaninbildner.

### a) Isolierung.

Um die einer Oxydation zu Melanin fähigen Stoffe der Kartoffelknolle erfassen zu können, muß die gleichzeitig stets vorhandene Tyrosinase entfernt werden, da sonst schon während der Verarbeitung ein Teil der oxydablen Substanzen angegriffen würde.

Wir benutzten deshalb gekochte Knollen und gekochten Preßsaft; darin ist die Tyrosinase zerstört. Allerdings erfolgt durch das Kochen eine gewisse Veränderung der oxydablen Substanzen. Man bemerkt z. B., daß die durch Zusatz von Tyrosinase (aus anderen Kartoffeln gewonnen) zu gekochtem Brei oder Preßsaft auftretenden Dunkelfärbungen sehr viel schwächer sind, als die beim gewöhnlichen Zerreiben einer rohen Knolle zu Brei erzielbaren. Durch die Zerstörung eines Teils der Melaninbildner

<sup>1)</sup> Mehrere Knollen gemeinsam. Diese Knollen konnten wegen ihrer Kleinheit nicht halbiert werden. Sie hatten aber sicher den Index 0 bis +, da alle anderen geprüften Knollen dieser Herkunft den Index 0 bis höchstens + hatten.

beim Kochen erklärt sich vielleicht das Fehlen jeder Gesetzmäßigkeit in den erhaltenen Resultaten. Überdies wissen wir nicht, ob die fraglichen Substanzen nicht teilweise unlöslich sind oder durch das Kochen unlöslich werden. In diesem Fall wären sie in dem gekochten und filtrierten Preßsaft kaum mehr vorhanden, während sie in dem Brei aus gekochten Knollen noch wirksam sein könnten.

Außerdem wird die Verwendung von gekochtem Preßsaft noch dadurch unübersichtlich, daß in ihm nach H. S. Raper und A. Wormall (18) noch Stoffe vorhanden sind, die auf Tyrosinase aktivierend wirken.

Haehn (19) hatte früher zur Bestimmung seiner „Melaninzahl der Kartoffel“ ebenfalls gekochte Preßsätze verwendet. Das Kochen erfolgte aber erst nach weitgehender Melaninbildung, und die durch Titration mit  $\text{KMnO}_4$  gefundene Menge des Melanins war sowohl von der Konzentration der Melanogene als auch von der Oxydasen im Ursprungspreßsaft abhängig. Haehn fand eine starke Abhängigkeit der „Melaninzahl“ von der Kartoffelsorte.

Das Kochen der Knollen geschah 30 Minuten in Wasser; danach wurden die Knollen nach dem Abziehen der Schale zu Brei zerdrückt. Der gekochte Preßsaft wurde hergestellt, indem eine rohe Knolle mit der Schale rasch auf einer Glasreibe zerrieben wurde; der Brei wurde abgenutscht und das Filtrat einmal kräftig aufgekocht und von den dabei reichlich ausfallenden Gerinnungsprodukten abfiltriert.

#### b) Gehaltsbestimmung.

Die Ermittlung des Gehaltes an Stoffen, die in Gegenwart von Tyrosinase Melanine bilden, geschah in dem Brei aus den gekochten Knollen und in dem gekochten Preßsaft durch Zufügen (1:1) einer aus anderen Kartoffeln gewonnenen Tyrosinaselösung und Beobachtung der nach zirka 18 Stunden Aufenthalt bei  $37^\circ\text{C}$  eingetretenen Dunkelfärbung.

Da die Wahrscheinlichkeit bestand, daß unter den „Melaninbildnern“ das Tyrosin zusammen mit anderen Stoffen oder vielleicht auch allein vorkam, führten wir eine spezielle Prüfung auf Tyrosin aus, für die sich nur der gekochte Preßsaft eignete. Dieser Tyrosinnachweis erfolgte mit  $\alpha$ -Nitroso- $\beta$ -Naphthol nach einer Vorschrift von O. Gerngross (20), wobei wir statt der vorgeschriebenen zwei Tropfen 25%iger  $\text{HNO}_3$  deren drei verwendeten.

Schließlich machten wir die Beobachtung, daß sich aus Kartoffelsubstanz auch ohne Mitwirkung von Tyrosinase ein dunkelbraunes Pulver gewinnen läßt, das sich äußerlich nicht von Melanin unterscheidet und das sicher den Melaninen oder vielleicht den mit ihnen verwandten Huminen nahesteht. Diese Melaninbildung erfolgt durch mehrstündigiges

Kochen von kleinen Schnitzeln aus rohen, geschälten<sup>1)</sup> Kartoffeln, von Brei oder von Preßsaft mit einem Überschuß (z. B. dem  $3\frac{1}{2}$  bis 5fachen) von konzentrierter Salzsäure. Dabei fällt ein tiefbrauner Niederschlag aus, der abfiltriert, mit Wasser gewaschen und gewogen werden kann. Aus Schnitzeln bildet sich sehr viel Melanin (bis zu 4,5% des Frischgewichts = zirka 20% des Trockengewichts!), aus rohem Preßsaft wenig, aus gekochtem noch weniger. Da wir über die Natur der dunkelgefärberten Substanzen, die bei der Kupferprobe auftreten, noch nichts wissen, so schien es uns geboten, auch die mit Salzsäure erzielbaren dunkelgefärberten Substanzen<sup>2)</sup> in den Kreis unserer Betrachtungen einzubeziehen. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß auch reine Stärke reichlich braune Humine liefert. 3 g Kartoffelstärke lieferten mit 9 ccm Wasser und 43 ccm konzentrierter Salzsäure gekocht 0,36 g = 12% Humin. Ebenso sind Eiweißkörper, besonders bei Gegenwart von Kohlehydraten zur Bildung ähnlicher Stoffe befähigt. Aus all dem folgt, daß bei der Salzsäurebehandlung der Kartoffel ein viel weiterer Kreis von Substanzen zur Melaninbildung beiträgt als der, der mit Tyrosinase reagiert.

### c) Räumliche Verteilung in der Knolle.

Im folgenden sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammengestellt. Zunächst sollte die Frage beantwortet werden, ob die Melaninbildner in der Kartoffelknolle ungleichmäßig verteilt sind oder nicht.

Brei aus gekochten Knollen färbte sich beim Vermengen mit (25%) Tyrosinaselösung im Brutschrank bräunlich. Dabei zeigten sich nur geringe Intensitätsunterschiede, wenn Proben aus räumlich verschiedenen gelegenen Teilen der Knollen verglichen wurden, und zwar ergab sich bei den untersuchten Knollen von:

Erdgold, Haaslach (Vital)  
 Industrie<sup>3)</sup>  
 Parnassia (Abbau)  
 Juliniere (Abbau)

dass die Färbung in der Reihenfolge Mark < Gefäße < Rinde zunahm.

Sehr große räumliche Unterschiede zeigten sich in bezug auf die Stoffe, die sich in der rohen Knolle (Schnitzel) mit Salzsäure in „Humine“ verwandeln lassen. Die Ausbeute betrug (die Schale wurde weggeschnitten) bei:

<sup>1)</sup> Die Kartoffelschale ist gegen die Salzsäurebehandlung resistent.

<sup>2)</sup> Wir wollen sie „Humine“ nennen.

<sup>3)</sup> Die Knollen von Industrie waren aus dem Frankfurter Handel bezogen. Die verwendeten Knollen waren nicht untersucht, von drei anderen Knollen der gleichen Sendung erwiesen sich nach der Kupferprobe zwei als +++ und eine als 0.

Tabelle 6.

		Bezogen auf Frischgewicht %	Bezogen auf Trockengewicht %
Erdgold Hauslach (Vital) . . . . .	Gefäße	4,5	zirka 20
	Mark	3,2	
Parnassia (Abbau) . . . . .	Gefäße	4,2	
	Mark	2,8	
Juliniere (Abbau) . . . . .	Gefäße	3,3	zirka 10
	Mark	2,3	

Der Gehalt einer Kartoffelknolle an Melaninbildnern nimmt also vom Mark nach der Rinde hin zu.

#### d) Beziehung zwischen Gehalt an Melaninbildnern und Vitalität.

Eine größere Reihe von Versuchen diente der Feststellung, ob der Gehalt der Knollen an Melaninbildnern in einer Beziehung zu ihrer Vitalität bzw. Sorte steht, wobei wir uns bewußt sind, daß der Vergleich verschiedener Sorten statt verschiedener Herkünfte einer Sorte nicht ohne weiteres statthaft ist. Mit Rücksicht auf die geringen Mengen an Abbaumaterial mußten wir jedoch diesen Schönheitsfehler mit in Kauf nehmen.

Wenn Brei aus gekochten Knollen mit 25% Tyrosinaselösung vermischt zirka drei Stunden im Brutschrank blieb (offene Röhrchen), so zeigten sich zwischen Proben aus verschiedenen Sorten nur sehr geringe Unterschiede in bezug auf die Intensität der Braunfärbung. Doch war zu erkennen, daß diese Intensität in folgender Reihenfolge zunahm:

Industrie <sup>1)</sup>	}	<	Erdgold (Vital).
Parnassia (Abbau)			
Juliniere (Abbau)			

Aus der Tabelle 6 folgt ähnlich für die aus rohen Schnitzeln mit Salzsäure zu Huminen umwandelbaren Substanzen, daß ihre Konzentration bei den Knollen von Erdgold am größten, bei Parnassia kleiner und bei Juliniere am geringsten ist.

Letzteres Ergebnis wurde bestätigt an weiteren Knollen, die als Ganzes (ohne Aufteilung in Fraktionen) untersucht wurden<sup>2)</sup>. Dabei ergab sich für die Ausbeute an trockenem Humin, bezogen auf Frischgewicht:

<sup>1)</sup> Vitalität vgl. S. 270 Anmerkung 3.

<sup>2)</sup> Es fiel uns auf, daß beim Einbringen der Schnitzel in die kalte konzentrierte Salzsäure sich die Schnitzel aus gelbfleischigen Knollen grün färbten, während die weißfleischigen weiß blieben. Beim Erhitzen begannen sich dann alle Schnitzel zu bräunen.

Erdgold Hauslach (Vital) . . . . .	4,1 %
Erdgold Klein Ziethen (Abbau) . . . . .	3,5 %
Parnassia (Abbau) . . . . .	2,6 %
Juliniere (Abbau) . . . . .	2,5 %

Aus diesen Versuchen kann man nicht schließen, ob verschiedene Sorten sich verschieden verhalten, oder ob es sich um einen Einfluß der Vitalität handelt.

Nicht eindeutig erwiesen sich die Versuche zur Bestimmung der Melaninbildner in gekochtem Preßsaft. Vorversuche an je einer Knolle ergaben für die Intensität der Dunkelfärbung bei Prüfung mit Tyrosinase:

$$\begin{array}{l} \text{Erdgold Hauslach} > \text{Juliniere} > \text{Parnassia} \\ (\text{Vital}) \qquad \qquad \qquad (\text{Abbau}) \qquad \qquad (\text{Abbau}) \end{array}$$

während sich für die mit Salzsäure gebildete Melaninmenge (nach dem Volumen geschätzt) ergab:

$$\text{Erdgold} > \text{Parnassia} > \text{Juliniere}$$

Da nicht sicher war, ob die verwendeten Knollen als für die Sorte typisch betrachtet werden können, wurden die Versuche wiederholt mit elf Knollen aus sechs verschiedenen Sorten, die in zwei Teile zerschnitten wurden, und von denen die eine Hälfte nach dem Verkleben der Schnittfläche mit paraffiniertem Papier gleichzeitig der Kupferprobe unterworfen wurde (vergl. S. 267). Die andere Hälfte wurde zu gekochtem Preßsaft verarbeitet, dessen Gehalt an Melaninbildnern je nach drei verschiedenen Methoden geprüft wurde:

1. durch Zusatz einer Tyrosinaselösung (1:1) und Beobachtung der nach 19 Stunden Aufenthalt bei 37° aufgetretenen Dunkelfärbung (Tabelle 7),

2. durch Prüfung auf Tyrosin mit  $\alpha$ -Nitroso- $\beta$ -Naphthol, wobei sich der Gehalt aller Preßsäfte zu zirka 0,3% Tyrosin ergab, und

Tabelle 7.

	Farbton mit Tyrosinase	Index der Kupferprobe
Direktor Johannsen (Mechow) . . . . .	2. Knolle	dunkelbraun
Direktor Johannsen (Mechow) . . . . .	1. Knolle	+
Direktor Johannsen (Dahlem), mehrere Knollen gemeinsam		0/+ <sup>1)</sup>
Juliniere . . . . .	2. Knolle	heller braun
Juliniere . . . . .	1. Knolle	dunkelbraun
Erdgold (Hauslach) . . . . .	1. Knolle	+
Erdgold (Hauslach) . . . . .	2. Knolle	heller braun
Erdgold (Klein Ziethen) . . . . .	1. Knolle	dunkelbraun
Erdgold (Klein Ziethen) . . . . .	2. Knolle	+
Parnassia . . . . .	2. Knolle	heller braun
Parnassia . . . . .	1. Knolle	dunkelbraun
		++
		++
		++
		++
		++
		++

<sup>1)</sup> Vergl. Anmerkung S. 268.

Tabelle 8.

		Relative Huminmenge mit HCl	Index der Kupferprobe
Direktor Johannsen (Mechow)	1. Knolle	2,5	+++
Direktor Johannsen (Dahlem), mehrere Knollen gemeinsam		2	0/+ <sup>1)</sup>
Juliniere	2. Knolle	4,1	+
Juliniere	1. Knolle	1,5	0
Parnassia	2. Knolle	3,9	+++
Parnassia	1. Knolle	1,6	++
Erdgold (Klein Ziethen)	2. Knolle	5	-
Erdgold (Klein Ziethen)	1. Knolle	3	++
Erdgold (Hauslach)	1. Knolle	2	++
Erdgold (Hauslach)	2. Knolle	1,5	+++

3. durch Kochen mit konzentrierter Salzsäure (2 ccm Saft + 10 ccm konzentrierter HCl) und schätzungsweises Vergleichen der durch Aufschwemmen des gebildeten „Humins“ in Wasser entstehenden Trübungen (Tabelle 8).

Aus den Tabellen 7 und 8 ist festzustellen, daß die in gekochtem Preßsaft mit Tyrosinase oxydierbaren Melaninbildner und die darin befindlichen mit Salzsäure zu Humin umwandelbaren Substanzen mit dem Ergebnis der Kupferprobe (also auch mit der Vitalität) in einer gewissen Beziehung stehen (für Erdgold in Tabelle 8 trifft dies jedoch nicht zu). — Mit Rücksicht auf das geringe zur Verfügung stehende Vergleichsmaterial möchten wir jedoch auf diese Beziehung nur mit allem Vorbehalt hinweisen.

### 3. Sauerstoff.

#### a) Die Sauerstoffüberträger in der Knolle.

Zur Oxydation der Melaninbildner in Gegenwart von Tyrosinase ist Sauerstoff nötig. Doch ist das Verhalten der Kartoffelsubstanz in bezug auf den Sauerstoff wahrscheinlich recht verwickelt. Es müssen Stoffe in ihr vorhanden sein, die Sauerstoff leicht und reversibel aufnehmen und abgeben, so daß sich Redox-Potentiale messen lassen (Wartenberg und Hey, 22). Damit hängen die folgenden Beobachtungen zusammen:

1. Wird ein frisch herstellter Brei aus rohen Kartoffeln in einem verschlossenen Gefäß luftdicht aufbewahrt, so bleibt er, auch bei 37°, weiß; war er während der Herstellung schon etwas rötlich geworden, so wird er, mindestens bei 37°, bei Luftabschluß rasch wieder weiß. (vergl. auch Friedheim, 13). Wurde ein solcher luftdicht abgeschlossener Brei, nachdem er bei siebenstündigem Aufenthalt bei 37° weiß geblieben war, der Luft ausgesetzt, so wurde er fast momentan dunkelbraun, also

<sup>1)</sup> Vgl. Anmerkung S. 268.

viel rascher als ein frisch hergestellter Brei und auch nicht wie dieser über rot als Zwischenstufe, sondern über graubraun. Die siebenständige Autolyse hat also vielleicht eine Vermehrung, jedenfalls aber eine Umwandlung der Melanogene des Kartoffelbreies bewirkt, die die Ursache des veränderten Verlaufs der Melaninbildung ist. Vielleicht hängt damit die Beobachtung Haehns (19) zusammen, der aus der starken Erhöhung der Melaninzahl von Preßsäften durch 24ständige Autolyse bei 37° auf einen während dieser Zeit eingetretenen Proteinabbau unter Bildung von Aminosäuren mit Melanogeneigenschaften schließt.

2. Wird bei der Kupferprobe die Einstichstelle des Bleches zugeklebt, um Sauerstoff fernzuhalten, so breitet sich die Gewebeveränderung ebenso weit aus, wie bei Nichtzukleben der Einstichstelle, dagegen ist das veränderte Gewebe nach dem Aufschneiden der Knolle in der Nähe des Kupferblechs fast stets farblos oder schwach rosa, während es manchmal am äußeren Rand der veränderten Zone, wo also eventuell doch eindringende Spuren von Luftsauerstoff zuletzt hinkommen, braun gefärbt



Abb. 3.

ist. Das Gewebe löst dabei übrigens fast ebensoviel Cu wie bei nicht verklebten Knollen (vergl. S. 281). Diese Erscheinung ist schwerer zu deuten. Der Sauerstoffmangel würde erklären, daß das veränderte Gewebe weiß bleibt, die braunen Ränder jedoch würden besagen, daß unter bestimmten Bedingungen (Nachbarschaft intakter Zellen?) doch auch Melaninbildung bei Sauerstoffmangel stattfinden kann. Wir wissen nicht, welche Substanz in diesem Falle als Sauerstofflieferant bzw. Wasserstoffakzeptor dient, und auch nicht, ob diese gleiche unbekannte Substanz verantwortlich ist für die Auflösung von Kupfermetall bei Sauerstoffmangel.

Bei Kupferproben, bei denen die Einstichstelle des Blechs zugeklebt war, zeigte sich nach dem Aufschneiden oft eine auffallende Unsymmetrie der Farberscheinung (vergl. S. 282). Eine ebensolche fand sich mehrfach bei nicht verklebten Proben von Juliniere (Abbau), die aber statt sieben Stunden 24 Stunden bei 37° gehalten und danach aufgeschnitten worden waren, wie Abb. 3 schematisch zeigt.

Die Ursache hierfür wird sein, daß Sauerstoff auf der einen Seite des Blechs in größerer Menge eingedrungen ist als auf der anderen.

Übrigens ergeben sich bei den zugeklebten Kupferproben genau die gleichen Farberscheinungen, wenn statt des Kupferblechs ein Quarzstreifen verwendet wird (vergl. S. 285).

### b) Wirkung von Reduktionsmitteln.

Folgende Versuche sollten dazu dienen, die Rolle des Sauerstoffs bei den Reaktionen des Kartoffelgewebes weiter zu klären.

Zunächst wurde versucht, Kartoffelbrei durch Zusatz von Reduktionsmitteln vor der Oxydation an der Luft zu schützen.

Bemerkenswert ist die Wirkung von Natriumsulfit. Kartoffelbrei bleibt bei Zusatz von nicht zu wenig Natriumsulfit dauernd fast weiß; eine vor dem Zusatz schon eingetretene Rötung wird wieder gebleicht. Durch Abnutschen eines solchen sulfithaltigen Breies erhält man einen hellgelblichen Saft, der weder Tyrosin- noch Tyrosinase-Reaktion, dagegen noch starke Katalasereaktion zeigt. Der weiße Rückstand auf der Nutsche gibt nach dem Auswaschen noch eine nur schwache Tyrosinase-Reaktion.

Ein überraschendes Resultat ergab sich, als der für die dauernde Bleichung nötige Zusatz vergleichend für verschiedene Sorten quantitativ bestimmt wurde. Von sechs Sorten der Biologischen Reichsanstalt wurden meist je zwei bis drei Knollen auf der Glasreibe zerrieben und jeder Brei auf acht flache Schälchen (je zirka 11 ccm) verteilt und die angegebenen Mengen einer 1%igen Lösung von Natriumsulfit<sup>1)</sup> zugefügt.

Ergebnis nach 18 Stunden:

Tabelle 9.

Nr.	cem Sulfitzusatz . . .	0	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
1	Erdgold, Hauslach (Vital) . . . .	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	Spur braun	hell	hell
2	Erdgold, Klein Zie- then (Abbau) . .	"	"	"	"	mittel- graubraun	hell	"	"
3	Direktor Johannsen, Mechow (Vital) .	"	"	"	"	"	"	"	"
4	Direktor Johannsen, Dahlem (Abbau) .	"	"	"	"	dunkel- braun	"	"	"
5	Parnassia (Abbau) .	braun	braun	braun	braun	hellbraun	Spur braun	"	"
6	Juliniere (Abbau) .	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	dunkel- braun	"	"	"

<sup>1)</sup> Natrium sulfurosum purum cryst. DApVer. 4.

Nach 40 Stunden sind alle Sorten bei den beiden höchsten Zusätzen noch hell, bei den fünf niedrigsten schwarz bzw. braun, beim Zusatz von 0,8 ccm sind Nr. 2 und 3 noch hell, die übrigen braun bis schwarz.

Es ist also eine ganz bestimmte Minimalmenge (0,5 bis 1 g Sulfit je Liter Brei) nötig, um den Brei dauernd farblos zu halten, ein nur wenig geringerer Zusatz kann die Färbung zwar verlangsamen, aber nicht verhindern. Neben dieser Schärfe der Reaktion in bezug auf eine Sorte ist auffallend, daß auch zwischen den einzelnen Sorten nur sehr geringe Unterschiede bestehen. Ob dabei eine Beziehung zur Vitalität besteht, können unsere Versuche wegen der geringen Knollenzahl nicht lehren, sie machen aber eine solche Beziehung unwahrscheinlich. Die Verhinderung der Färbung durch die Minimaldosis an Sulfit (ebenso wie die durch größere Mengen) ist irreversibel, weder vorsichtiger Zusatz von  $H_2SO_4$  noch von  $H_2O_2$  ruft die Braufärbung wieder hervor.

Bemerkenswert ist auch die Sorte *Parnassia*, die aus der Reihe der übrigen herausfällt durch ihre auffallend hellen Farbtöne bei ungenügendem Sulfitzusatz oder ohne diesen.

Dem entspricht es, daß diese selbe Sorte bei der Kupferprobe ebenfalls nur hellbraune Farbtöne erreichte.

Darauf wurden noch eine Reihe weiterer Reduktionsmittel geprüft: Zumischen von Zink- oder Magnesiumpulver zu Kartoffelbrei beeinflußt dessen Dunkelfärbung nicht. Wasserstoffsuperoxyd hemmt nur vorübergehend. Der Farbton des Kartoffelbreies bleibt bei Zusatz einiger Tropfen Perhydrol einige Stunden lang nur rosa gefärbt; während dieser Zeit wird das  $H_2O_2$  durch die Katalase des Breies unter starkem Schäumen zersetzt, worauf sich der Brei weiter dunkel färbt. Festes  $SnCl_2$  hält Kartoffelbrei, dem es zugemischt wird, dauernd und irreversibel rein weiß, festes Hydroxylaminchlorhydrat dauernd und irreversibel hellgelb mit Stich nach Orange. Auch bei Zusatz von Hydroxylamin-chlorhydrat zu einem Gemisch von Brenzkatechin-Glykokoll mit Tyrosinase entsteht nur eine Gelbfärbung, keine Rotfärbung.

Wird Kartoffelbrei mit etwa 4 % Formaldehyd versetzt, so bleibt er dauernd schwach gelbgrau.

Neutralisiert man einige Stunden danach den Formaldehyd mit  $NH_3$ , so färbt sich der Brei dunkler, erreicht aber nicht die gleiche Farbtiefe wie ein unbehandelter Brei, sondern wird nur mittel- bis dunkelbraun. Da diese Dunkelung auch durch Tyrosinasezusatz nicht beschleunigt wird, hat das Formol nicht das Ferment, wohl aber das Substrat etwas geschädigt.

Gegenüber der Brenzkatechin-Glykokoll-Mischung greift Formaldehyd sogar farbverstärkend in den fermentativen Oxydationsmechanismus ein. Setzt man zu dieser Mischung eine frische oder einige Stunden alte, helle Mischung von Kartoffelbrei mit Formol, so entsteht viel schneller und mit viel größerer Intensität eine Rotfärbung (Purpur)

als ohne Formolzusatz. Allerdings verblaßt sie über Nacht. Eine nach S. 264 gewonnene Tyrosinaselösung wird gegenüber Brenzkatechin-Glykokoll dagegen nicht durch Formol aktiviert, die entstehende Rotfärbung verblaßt auch hier über Nacht.

### c) Wirkung von Antioxygänen.

Schließlich wurde untersucht, ob sich die fermentative Oxydation von Kartoffelsubstanz durch die von Mourau und Dufraisse (21) angegebenen „Antioxygäne“ verhindern läßt.

Hydrochinon in den Konzentrationen 0,5, 0,05 und 0,005 % erwies sich gegenüber in Dunkelfärbung begriffenem Kartoffelbrei als unwirksam, dagegen wird es selbst von der im Kartoffelbrei enthaltenen Tyrosinase rasch angegriffen und unter Dunkelfärbung oxydiert.

Die folgenden Stoffe wurden an Brenzkatechin-Glykokoll-Tyrosinase-mischung geprüft: Anilin und  $\beta$ -Naphthylamin-Chlorhydrat erwiesen sich beim Zusatz 1:200 unwirksam, bei 1:20 sogar, wenn auch nur für einige Minuten, beschleunigend.  $\beta$ -Naphtholnatrium, Thymolnatrium und Tannin waren ebenfalls 1:200 unwirksam, 1:20 hemmten sie deutlich, aber nur für einige Minuten.

Diese Antioxygäne haben also keinen Einfluß auf die durch Tyrosinase vermittelten Oxydationsvorgänge.

Wir stellten die in den beiden letzten Kapiteln beschriebenen Versuche mit Reduktionsmitteln und Antioxygänen an, in der Hoffnung, vielleicht Verschiedenheiten zwischen gesunden und abgebauten Knollen diesen Einflüssen gegenüber zu finden. Das war nicht der Fall: Die Antioxygäne scheinen gegenüber unseren enzymatischen Oxydationen ganz unwirksam zu sein; gegenüber den Reduktionsmitteln zeigte sich ein ganz unspezifisches Verhalten der Kartoffelknolle fast unabhängig von Sorte und Herkunft. So konnten diese Versuche für den Zweck der vorliegenden Arbeit keine positiven Beiträge liefern.

Wir wollen hier die wichtigsten Ergebnisse dieses ersten Teils unserer Untersuchungen kurz zusammenfassen:

Alle Kartoffelknollen, gesunde wie abgebaute, enthalten Melaninbildner, das heißt Stoffe, die durch fermentative Oxydation in dunkelbraun gefärbte Melanine übergehen, und enthalten gleichzeitig das dazu nötige Ferment, die Tyrosinase. Melaninbildner wie Tyrosinase sind fast in allen Knollen in den Randteilen angereichert zu finden. Eine Beziehung zwischen der Konzentration von Melaninbildnern und Tyrosinase einerseits und der Vitalität andererseits konnte nicht aufgefunden werden, verschiedene Sorten haben aber sicher verschiedenen Melanogenengehalt. Jede Kartoffelknolle enthält reduzierende und oxydierende Stoffe, unter den ersteren befinden sich die Melaninbildner. Der Zusatz von verschiedenen Reduktionsmitteln zu Kartoffelbrei vermag die oxidative

Melaninbildung durch Luftsauerstoff zu verhindern, der Zusatz von Anti-oxygenen ist dazu nicht imstande.

## II. Mitwirkung von Mikroorganismen bei der Kupferprobe?

Es war uns von vornherein unwahrscheinlich, daß eingeschleppte Mikroorganismen bei der Gewebeveränderung durch die Kupferprobe eine Rolle spielen könnten, da Kupfer ein hochwirksames Desinfizient ist. Trotzdem hielten wir es für geboten, die Frage einer Prüfung zu unterziehen. — Zu dem Zweck unterwarfen wir eine Reihe von Knollen der Kupferprobe. Knollen, Kupferbleche und Gefäße, in denen die Knollen in den Brutschrank kamen, wurden jedoch jedes für sich vor dem Versuch sterilisiert. Das Sterilisieren der Knollen geschah teils durch Abbrennen in einer vollen Bunsenflamme, wobei getrennt ein kürzeres (zirka 4 Sek.) und ein längeres (zirka 15 Sek.) Abbrennen erfolgte, teils durch 1- bis 2 stündiges Einlegen der Knollen in eine 0,1%ige Sublimatlösung. Das Sterilisieren der Kupferstreifen geschah durch rasches Abbrennen (zirka 3 Sek.) in der vollen Bunsenflamme (wobei manchmal schwache Anlauffarben auftraten) und Abkühlenlassen in einer sterilen Petrischale. Das Sterilisieren der Gefäße erfolgte im Dampftopf (zirka 1 bis 1½ Stunden) oder im Trockensterilisator bei 140°C (etwa 1 Stunde).

Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle 10.

Tabelle 10.

### 1. *Parnassia Streckenthin* (Vital).

4 Knollen als Kontrolle nicht steril . . . . .	3 +++, 1 ++.
4 Knollen schwach abgebrannt . . . . .	alle stark +++, teilweise außerdem verfärbte Randzonen.
4 Knollen stark abgebrannt . . . . .	fast die ganze Knolle in meist ungewöhnlicher Weise verfärbt, verfärbte Randzonen.
7 Knollen in Sublimat gelegt. . . . .	alle stark +++, sehr breite, aber auffallend hellrote Zonen.

### 2. *Parnassia Dahlem-Dahlem* (Abbau).

4 Knollen als Kontrolle nicht steril . . . . .	3 ++, 1 +.
4 Knollen schwach abgebrannt . . . . .	1 +++, 3 ++, teilw. verfärbte Randzonen.
4 Knollen stark abgebrannt . . . . .	2 +++, 2 ++, viele verfärbte Randzonen, Farben meist rot.
7 Knollen in Sublimat gelegt. . . . .	3 +++, 2 ++, 1 +, 1 ganz unregelmäßig. Farben meist rosa.

### 3. *Odenwälder Blaue Mechow-Mechow* (Vital).

2 Knollen als Kontrolle nicht steril . . . . .	0, ++.
2 Knollen schwach abgebrannt . . . . .	+, +.
2 Knollen stark abgebrannt . . . . .	größere, aber unregelmäßige Gebiete rosa, braune Ränder.

### 4. *Odenwälder Blaue Dahlem-Dahlem* (Abbau).

2 Knollen als Kontrolle nicht steril . . . . .	+, ++.
2 Knollen schwach abgebrannt . . . . .	0, 0.
2 Knollen stark abgebrannt . . . . .	0, 0, aber braune Randzonen.

Die weitaus größte Zahl der sterilisierten Knollen zeigt trotz dieser Maßnahme die gleichen charakteristischen Verfärbungen, wie sie die Kupferprobe bei unbehandelten Knollen hervorruft; an deren Zustandekommen können also Mikroorganismen nicht beteiligt sein.

Dagegen treten umgekehrt, wahrscheinlich unter der Einwirkung der Hitze oder des eindiffundierenden Sublimats bei vielen vitalen und abgebauten Knollen Verfärbungen in den Randgebieten auf. Oft sind auch die Verfärbungen im Innern stärker als früher beobachtet, besonders bei den Abbauknollen, so daß auf diese Weise die Unterschiede zwischen vitalen und abgebauten Knollen verwischt erscheinen.

### III. Die Wirkung von Kupfer auf Kartoffelsubstanz.

#### 1. Die Auflösung von metallischem Kupfer in Kartoffelsubstanz.

In diesem Teil der Untersuchung sollte geprüft werden, ob bei der Kupferprobe eine chemische Wirkung des Kupfers beteiligt ist. Die Voraussetzung für diese Möglichkeit wäre, daß sich von dem Kupferblech Kupfer auflöst, damit das gelöste Cu in irgend einer Weise in das System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff eingreifen kann.

##### a) In Kartoffelbrei.

Zunächst wurde die Frage untersucht, ob sich metallisches Cu in Kartoffelsubstanz löst, welche Mengen sich unter verschiedenen Bedingungen lösen und ob Knollen verschiedener Sorten oder Vitalität sich im Lösevermögen unterscheiden. Diese Untersuchungen wurden an anderer Stelle (3) mit allen experimentellen Einzelheiten veröffentlicht, so daß hier nur die Ergebnisse angeführt zu werden brauchen.

Zuerst wurde die Lösefähigkeit von Kartoffelbrei von 37° C für darin bewegtes blankes Kupferblech (Kupferrührer) bestimmt, und zwar bei Luftzutritt und bei Luftsabschluß (unter Stickstoff).

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 11.

Aus der Tabelle 11 lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Sowohl Vital- als auch Abbauknollen lösen in Breiform Kupfer (mindestens 8 γ je Gramm Brei). Unter Luft löst sich mehr Cu als unter Stickstoff.
2. Unter Stickstoff lösen Vitalknollen im Durchschnitt mehr als Abbauknollen (18 γ gegen 12 γ), doch können auch Überschneidungen vorkommen (15 γ bei Abbau gegen 13 γ bei Vital)
3. Das Aufnahmevermögen eines Breies für Cu ist begrenzt, denn ein Vitalbrei, der unter Stickstoff 21 γ Cu aufgenommen hatte, löst anschließend unter Luft nur noch weitere 18 γ. Dagegen konnte ein Abbaubrei, der unter Stickstoff nur 13 γ gelöst hatte, anschließend unter Luft noch weitere 22 γ Cu lösen.

Tabelle 11.

Sorte	Gesundheitszustand auf Grund der Kupferprobe	Gelöste Kupfermenge	
		Unter Luft oder Stickstoff	in γ Gramm Brei
1. Industrie . . . . .	nicht definiert <sup>1)</sup>	N <sub>2</sub>	8
2. Industrie . . . . .	Luft	23	
3. Erdgold (Hauslach) . . . . .	N <sub>2</sub>	13	
4. Erdgold (Hauslach) . . . . .	Abbau <sup>2)</sup>	9	
5. Direktor Johannsen (Mechow) . . . . .	Vital <sup>3)</sup>	18	
6. Direktor Johannsen (Mechow) . . . . .	Vital <sup>3)</sup>	21	
7. Direktor Johannsen (Mechow) . . . . .	Vital <sup>3)</sup>	Luft	18 <sup>4)</sup>
8. Juliniere . . . . .	Abbau <sup>2)</sup>	N <sub>2</sub>	13
9. Juliniere . . . . .	Abbau <sup>2)</sup>	Luft	22 <sup>4)</sup>
10. Odenwälder Blaue (Stade) . . . . .	Vital <sup>3)</sup>	N <sub>2</sub>	19
11. Odenwälder Blaue (Dahlem) . . . . .	Abbau <sup>3)</sup>	N <sub>2</sub>	15

Ein deutlicher Unterschied besteht also zwischen Vital- und Abbauknollen in bezug auf die Lösefähigkeit für Cu bei Luftabschluß, während sich bei Luftpzutritt die Unterschiede verwischen.

Während dieser Lösungsversuche wurden folgende Beobachtungen über die Farbveränderungen der Kartoffelbreie gemacht:

1. Während der Herstellung der Breie (Glasreibe) hatten sie bis zum Beginn der Versuche eine mittlere rosafarbene bis hellbraune Farbe angenommen. Im Laufe einer siebenstündigen Behandlung mit Cu wurde diese Farbe unter Stickstoff mittel- bis dunkelgrau braun. Ein Unterschied zwischen den einzelnen Kartoffelsorten oder Vitalitätsgraden war dabei nicht zu bemerken<sup>5)</sup>.

Ob die Erscheinung, daß die unter Stickstoff behandelten Breie nicht vollkommen weiß werden, auf unvollkommener Verdrängung der Luft oder auf einer spezifischen Wirkung des Kupfers beruht, ist nicht festzustellen.

2. Alle Breie, unabhängig von Sorte, Vitalität und Art der Kupferbehandlung werden rasch schwarz (z. B. nach einem Tag), wenn sie offen an der Luft stehen.

<sup>1)</sup> Vgl. Anmerkung 3 S. 270.

<sup>2)</sup> Verwendete Knollen waren Hälften, die entsprechend dem Ausfall der Kupferprobe an der anderen Knollenhälfte ausgesucht worden waren; vgl. dazu jedoch S. 267.

<sup>3)</sup> Verwendete Knollen waren nicht geprüft, da die betreffenden Sorten nach eigenen Messungen mit der Kupferprobe an anderen Knollen der gleichen Sorte unter sich sehr gleichmäßig waren.

<sup>4)</sup> Zu diesen Versuchen unter Luft wurde der gleiche Brei des vorhergehenden Versuchs, der unter Stickstoff schon Kupfer gelöst hatte, anschließend noch einmal verwendet.

<sup>5)</sup> Etwaige kleinere Unterschiede können der Beobachtung entgangen sein, da ja die Versuche an verschiedenen Tagen nacheinander angestellt wurden.

**b) In der Knolle.**

Nachdem wir festgestellt hatten, daß von einem in einem Brei bewegten Kupferblech recht viel Cu gelöst wird, traten wir an die Hauptfrage heran, ob und in welchem Maß Cu auch bei der Kupferprobe in Lösung geht, bei der ja ein Kupferblech ruhig an einer Stelle des Gewebes steckt und nur mit den unmittelbar benachbarten Zellen in Berührung ist, wo also für eine Auflösung viel ungünstigere Bedingungen herrschen. Dabei mußten wir zu unserer Überraschung feststellen, daß die bei der Kupferprobe gelösten Cu-Mengen relativ noch größer waren als die bei den Versuchen mit Brei.

Bei diesen Untersuchungen hatten wir uns der Unterstützung von Prof. Dr. Walter Gerlach (München) zu erfreuen, der in seiner funken-spektrographischen Methode die heute feinste quantitative Methode zum Nachweis von Metallspuren in der Hand hat.

Diese Untersuchungen ergaben, daß die normale, unbehandelte Kartoffelknolle je 0,1 bis 0,2 g frisches Gewebe weniger als  $1\gamma$  (schätzungsweise  $\frac{1}{10}\gamma$ ) Cu enthält. Dagegen enthalten die mit der Kupferprobe behandelten Knollen in den geschwärzten Teilen bis zu  $120\gamma$  Cu je 0,1 bis 0,2 g frisches Gewebe, wobei dieses Cu fast gleichmäßig in dem geschwärzten Gewebe verteilt ist. Die Diffusion des von Blech abgelösten Cu erfolgt also innerhalb des geschwärzten Gewebes sehr rasch, sodaß sich kein beträchtliches Konzentrationsgefälle ausbilden kann. In das dem geschwärzten Gewebe unmittelbar anliegende unveränderte Gewebe geht dagegen Cu höchstens spurenweise (bis zu  $1\gamma$  je 0,1 bis 0,2 g frisches Gewebe) über. Da bei Abbauknollen die geschwärzte Zone nur schmal ist, während sie bei Vitalknollen weit in das Gewebe ausgreift, so findet man bei der Abbauknolle nur in unmittelbarer Nähe des Blechs gelöstes Kupfer, während es bei der Vitalknolle bis in die äußersten geschwärzten Zonen in entsprechender Menge gefunden wird. Die räumliche Konzentration des gelösten Kupfers in der Knolle in den geschwärzten Teilen ist durchschnittlich bei Abbau- und Vitalknollen nicht verschieden. Daher ist im allgemeinen wegen des geringeren Volumens des geschwärzten Gewebes bei der Abbauknolle die absolute vom Kupferblech abgelöste Kupfermenge bei Abbauknollen geringer als bei Vitalknollen.

Dabei erhebt sich die Frage: Hängt auch hier die Menge des gelösten Kupfers von der Anwesenheit von Luftsauerstoff ab? Wir wollen noch einmal auf die Seite 274 beschriebenen Versuche zurückkommen, bei denen während der Kupferprobe die Einstichstelle des Blechs zugeklebt war. Bei einer Knolle der Sorte Direktor Johannsen (Vital) zeigte sich dabei nach dem Aufschneiden das in Abb. 4 schematisch dargestellte Bild.

Die Kupferanalysen von Prof. Gerlach ergaben, daß auch hier beträchtliche Kupfermengen in Lösung gegangen waren, und daß in dem links von dem Kupferblech gezeichneten Gewebeteil, in dem offenbar der

Sauerstoffmangel am beträchtlichsten war, fast ebensoviel Kupfer zu finden war wie in dem rechtsseitigen. Die Auflösung des Kupfers bei der Kupferprobe erfolgt also auch bei Luftabschluß, und zwar mit wahrscheinlich wenig verminderter Geschwindigkeit.

In diesem Zusammenhang muß auch ein Befund von Klinkowski (3) erwähnt werden. Klinkowski verglich blank geschmirgelte Kupferbleche in ihrer Wirkung mit solchen, die durch Einwirkung von Perhydrox auf ihrer Oberfläche eine Oxydschicht trugen, und zwar an je zirka 400 Knollen. Während wir in unserer ersten Arbeit (1) bei Versuchen

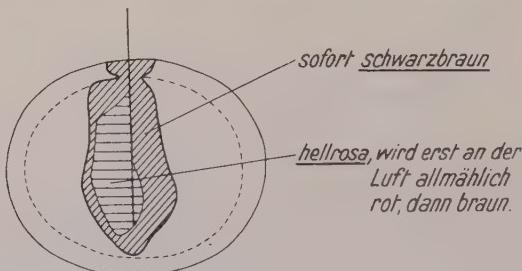


Abb. 4.

mit wenigen Knollen keinen Unterschied in der Wirksamkeit blanker und oxydierter Bleche feststellen konnten, fand Klinkowski bei seiner großen Versuchszahl eindeutig, daß die Verfärbungszone bei oxydierten Blechen erheblich breiter war als bei blanken; dabei waren die oxydierten Bleche nach der Ausführung der Kupferprobe stets völlig blank geworden. Dieses Verhalten läßt sich mit Klinkowski nur so deuten, daß das Kupferoxyd in der Knolle leichter gelöst wird als metallisches Kupfer, und daß die so erhaltene größere gelöste Kupfermenge eine größere Ausbreitung der veränderten Gewebszone bedingt. Dieses letztere Ergebnis ist für die Beurteilung der Rolle des Kupfers bei der Kupferprobe sehr wichtig; wir werden unten darauf zurückkommen.

Auffallend ist, wie schon auf S. 281 erwähnt, daß die bei der Kupferprobe gelöste Kupfermenge (z. B. 100 bis 200 γ pro qcm Fläche des Blechs bei einer Knolle von zirka 50 g Gewicht) größer ist als die bei den Versuchen mit Kartoffelbrei gelöste Kupfermenge (z. B. 40 γ pro qcm Fläche des Blechs bei einer Breimenge von 150 g), obwohl im ersten Fall das Blech ruhig an einer Stelle der Knolle steckt, während es im zweiten Fall mit immer neuen Teilen des Breies in Berührung kommt.

### c) Lösungsform und Diffusionsfähigkeit des Kupfers.

Wir prüften dann, in welcher Form das von dem Kupferblech abgelöste Kupfer in das Kartoffelgewebe übergeht. Beim Abpressen von Kartoffelbrei, in dem sich nach einem der oben beschriebenen Versuche vom Kupferrührer Kupfer gelöst hatte, fand sich das Kupfer fast restlos im Filtrat. Es ist also in dem Gewebssaft gelöst.

Wurden in einer Vitalknolle in 15 mm Entfernung voneinander ein Kupferblech und ein Zinkblech eingesteckt, so zeigte sich nach viertägigem Aufenthalt bei 37° eine vom Kupferblech ausgehende dunkelgefärbte Zone, die bis zum Zinkblech reichte (während vom Zinkblech nur eine sehr schmale Farbzone ausging). Trotzdem war am Zinkblech kein Kupfer ausgeschieden. Das gleiche Ergebnis zeigte sich, wenn dieses Blechpaar vier Tage lang bei 37° in einem Kartoffelbrei steckte. Auch hier hatte sich auf dem Zink kein Cu ausgeschieden. Wahrscheinlich liegt also das Kupfer in den Gewebssäften in Form einer komplexen Lösung vor.

Deshalb ist auch bei der Kupferprobe anzunehmen, daß die verhältnismäßig großen, dabei gelösten Cu-Mengen in Form einer komplexen Lösung in das Kartoffelgewebe übergehen. Über die Diffusionsfähigkeit dieses Kupfers steht bis jetzt folgendes fest: In einem Kartoffelgewebe, das in bezug auf seine mechanischen Eigenschaften und seine Farbe unverändert ist, diffundiert dieses gelöste Cu nur langsam. Das zeigt sich erstens bei den auf S. 281 erwähnten Analysen von Knollen, die der Kupferprobe unterworfen worden waren und bei denen die einer (geschwärzten) kupferreichen Gewebszone unmittelbar anliegende, nicht geschwärzte Zone nie mehr als 1 γ Cu enthielt. Dies wird aber auch durch folgenden Versuch nahegelegt, bei dem einer Vital-Knolle gelöstes Cu zugeführt wurde: Wenn in einen 6 mm weiten Bohrschacht in der Knolle 2 mg Kupfer in Form von CuCl<sub>2</sub>- oder Cu-Glykokoll-Lösung (je 1 ccm) gebracht wurde und diese Knolle (geprüft an sechs Knollen) mit einer Paraffinkappe verschlossen, fünf Tage bei Zimmertemperatur stehen blieb, so entstand eine nur 2 mm breite schwarze Zone, und das ganze umliegende unveränderte Gewebe enthielt nur etwa 25 γ Cu.

Zum Vergleich sei angeführt, daß eine konzentrierte Lösung von Methylenblau in 24 Stunden bei 20° nur etwa 1 mm, bei 37° etwa 1,5 mm weit in das Gewebe diffundiert (fast unabhängig von der räumlichen Lage in der Knolle, nur in der Gefäßbündelschicht kann es sehr viel weiter vordringen). Also auch hier zeigt sich, daß das unveränderte Kartoffelgewebe einer Diffusion einen beträchtlichen Widerstand entgegenstellt, wobei sich Vital- und Abbauknollen nicht unterscheiden.

Dagegen bietet das nach der Kupferprobe vorliegende, in seinen mechanischen und elektrischen Eigenschaften und seiner Farbe veränderte Gewebe einer Diffusion von gelöstem Kupfer offenbar einen weit geringeren Widerstand (vergl. S. 281).

## 2. Chemische Wirkungen von gelöstem Kupfer.

Es wurden hier teils Beobachtungen an der Kupferprobe, teils Modellversuche außerhalb der Knolle herangezogen.

### Ergebnisse.

1. Die Reaktionen von aus Kartoffeln hergestellten Tyrosinaselösungen mit Lösungen von Phenol, Phenol + Glykokoll, Brenzkatechin + Glykokoll und Tyrosin (vergl. S. 264) werden durch die Anwesenheit von Kupferblech nicht beeinflußt<sup>1)</sup>.
2. Die Reaktionen der aus Vital- und Abbauknollen nach verschiedenen Methoden isolierten Melaninbildner (gekochter Brei, gekochter Preßsaft) mit einer Tyrosinaselösung (vergl. S. 269) werden weder durch die Anwesenheit eines Kupferblechs (im Brei) noch durch Zusatz (zu Preßsaft) von  $\text{CuSO}_4$  (0,01, 0,002, 0,0002 %) oder Glykokollkupfer (0,2, 2, 5, 7, 10 % einer zirka halbgesättigten Lösung) beeinflußt. Seite 280 wurde schon berichtet, daß auch das bei den Lösungsversuchen mit Brei aufgenommene Kupfer keinen Einfluß hat auf die Dunkelfärbung dieser Breie an der Luft.
3. Bleiben auf einer Glasreibe rasch hergestellte Breie von Erdgold Vital über Nacht bei Zimmertemperatur oder bei  $37^\circ\text{C}$  mit oder ohne Zumischen von blanken Cu-Schnitzeln in einem verschlossenen Gefäß, so daß sie am nächsten Morgen noch nicht verfärbt sind, und werden danach aus diesen Breien rasch gekochte Preßsätze hergestellt, so finden sich in letzteren überall die gleiche Menge Melaninbildner (Prüfung mit einer Tyrosinaselösung). Die Anwesenheit von Cu bedingt also weder bei  $20^\circ\text{C}$  noch bei  $37^\circ\text{C}$  eine Vermehrung der Melaninbildner (etwa durch Eiweißspaltung).
4. In einem einzigen Fall konnten wir vielleicht eine chemische Wirkung von Kupfer in Kartoffelbrei feststellen. Wir mischten rotes  $\text{Cu}_2\text{O}$  mit Kartoffelbrei und stellten die Mischung in offenen Gefäßen in den Brutschrank. War der  $\text{Cu}_2\text{O}$ -Zusatz gering (Mischung gerade bemerkbar rosa gefärbt), so trat keine Beschleunigung der Dunkelfärbung auf, war er aber größer (Mischung rosa), so trat höchstwahrscheinlich eine Beschleunigung der Dunkelfärbung auf, jedenfalls war der Endton der Mischung tiefer schwarz. Dabei besteht allerdings die Möglichkeit einer durch den Kartoffelbrei katalysierten Oxydation des  $\text{Cu}_2\text{O}$  zu schwarzem  $\text{CuO}$  (feuchtes  $\text{Cu}_2\text{O}$ , auch in Gegenwart von  $\text{NaCl}$ , bleibt bei  $37^\circ\text{C}$  an der Luft unverändert).
5. Eine bemerkenswerte Wirkung zeigte das bei der Kupferprobe gelöste Cu: Prof. Gerlach stellte funkenspektrographisch fest (3), daß die Gewebszonen, die Kupfer aufgenommen hatten, an Kalium verarmt waren, daß also das von Natur in der

<sup>1)</sup> Pfankuch und Lindau (17) fanden allerdings eine geringe Hemmung der am Sauerstoffverbrauch gemessenen Oxydasetätigkeit von Preßsäften durch  $\text{Cu}^{++}$  (sowie durch  $\text{Mn}^{++}$  und  $\text{Fe}^{+++}$ ).

Knolle vorhandene Kalium von Kupfer verdrängt wird. Für diese auffallende Erscheinung haben wir vorläufig keine Erklärung.

#### IV. Die Wirkung mechanischer Einflüsse auf die Knolle.

Wir haben nun zwar gesehen, daß gelöstes Cu auf die Größe der verfärbten Gewebszone von Einfluß ist, haben aber keinerlei sichere Beobachtungen gemacht, die darauf hindeuten, wie das gelöste Cu imstande sein könnte, in irgendeiner Weise in das System Tyrosinase-Melaninbildner-Sauerstoff bei der Kartoffel einzugreifen. Daraus ergibt sich die Frage, ob überhaupt die chemische Wirkung des Cu die Hauptrolle spielt oder ob nicht die bei der Kupferprobe stattfindenden mechanischen Eingriffe in die Kartoffelknolle die eigentlichen Urheber der Gewebsveränderung sein könnten.

In diesem Falle mußte das Material des hineingesteckten Fremdkörpers gleichgültig sein und man mußte bei Verwendung chemisch indifferenter Stoffe statt Kupfer die gleichen Erscheinungen hervorrufen können. Im folgenden wurde dieser Frage nachgegangen.

##### 1. „Kupferprobe“ mit indifferenten Körpern.

Bereits in unserer früheren Veröffentlichung (1) hatten wir darauf hingewiesen, daß eine große Zahl chemisch ganz verschiedener Stoffe eine ähnliche, wenn auch meist nicht so intensive Verfärbung bei Vitalknollen hervorzurufen vermag, wenn die Knollen einer entsprechenden Wärmebehandlung unterzogen werden. Selbst destilliertes Wasser vermochte die Reaktion auszulösen. Wir behandelten deshalb acht Sorten der Biologischen Reichsanstalt statt mit Kupferblechen mit ähnlich geformten Streifen aus vollkommen indifferenten Stoffen, nämlich aus Glas<sup>1)</sup>, Quarz<sup>2)</sup> und Holz<sup>3)</sup> (letzteres wählten wir, weil nach einer brieflichen Mitteilung von Dr. Kattermann, Freising, auch Holz ähnliche Reaktionen auslösen sollte). Das Ergebnis ist in der Tabelle 12 zusammengestellt (Indizierung der aufgetretenen Färbungen wie bei der Kupferprobe).

Tatsächlich traten also auch bei Glas, Quarz und Holz in einzelnen Fällen Schwärzungen auf, ähnlich denen, die mit Kupfer erzielt werden. (Da zu den Versuchen nur je eine Knolle verwendet wurde, so können die geringen, in der Tabelle ersichtlichen Unterschiede zwischen den drei Stoffen wohl auf Individualunterschieden der verwendeten Knollen beruhen.) In anderen Fällen ist jedoch ein deutliches Abweichen von den Ergebnissen der Kupferprobe nicht zu erkennen, wie ein Vergleich mit dem durchschnittlichen Kupferindex der betreffenden Sorte zeigt. Keiner der drei

<sup>1)</sup> Längsgespaltene Objektträger.

<sup>2)</sup> Trübes Quarz von Siebert (Hanau).

<sup>3)</sup> Fichtenholz.

Tabelle 12.

Sorte und durchschnittlicher Gesundheitszustand	„Kupferprobe“ mit			
	Glas	Quarz	Holz	Kupfer <sup>1)</sup>
1. Erdgold Hauslach (Vital) . . . . .	++	0	+	200
2. Erdgold Klein Zieten (Abbau) . . . . .	0	0	0	113
3. Direktor Johannsen Mechow (Vital) . . . . .	+++	+++	+++	264
4. Direktor Johannsen Dahlem (Abbau) . . . . .	0	0	0	30
5. Parnassia (Abbau) . . . . .	0	+++	+++	180
6. Juliniere (Abbau) . . . . .	0	0	0	74
7. Odenwälder Blaue Stade (Vital) . . . . .	0	0	0	107
8. Odenwälder Blaue Dahlem (Abbau) . . . . .	0	0	0	0

genannten Stoffe liefert z. B. einen Unterschied zwischen Vital- und Abbauknollen von Odenwälder Blaue, während die Kupferprobe einen deutlichen Unterschied aufweist. Deshalb dürfte sich die Verwendung indifferenter Stoffe an Stelle von Kupfer als Unterscheidungsmittel zwischen Vital- und Abbauknollen nicht empfehlen.

Zu dem gleichen Ergebnis kam mit größerem Versuchsmaterial Klinkowski (3), der die Verwendbarkeit von runden Holzstäbchen (trocken, mit Wasser getränkt, oder mit  $\text{CuSO}_4$ -Lösung getränkt), Glasstäbchen oder Objekträgern anstelle von Cu-Blech bei der Kupferprobe untersuchte, und der ebenfalls in vielen Fällen eine Gewebeverfärbung beobachtete, die aber in keinerlei Beziehung zum wirklichen Gesundheitszustand stand.

Trotzdem rückt nach diesen Ergebnissen die mechanische Theorie der Kupferprobe in den Vordergrund. Wenn auch aus den letzten Versuchen mit genügender Deutlichkeit hervorgeht, daß das Kupfer durchaus nicht als überflüssig aus dem Kreis der Betrachtungen ausgeschlossen werden kann, so müssen wir doch zunächst die Frage entscheiden: Wie kommt die Gewebeveränderung bei Verwendung indifferenter Stoffe zustande?

Es kämen dafür zwei verschiedene mechanische Eingriffe in Frage: der durch das mehrstündige Verweilen des Fremdkörpers in der Knolle auf das umliegende Gewebe dauernd ausgeübte Druck oder die durch das einmalige Hineinstecken des Fremdkörpers eintretende Zerstörung der auf seiner Bahn liegenden Zellen.

Hier sollten die folgenden Versuche Aufklärung schaffen:

## 2. Druckwirkung.

Wenn Knollen der Sorte „Direktor Johannsen (Vital)“ unverletzt, aber mit einer rings um die Knolle geführten Schnur dauernd stark ein-

<sup>1)</sup> Die Zahlen stellen einen Mittelwert des Index über je zirka 30 Knollen dar, sie wurden berechnet durch Addition der Anzahl Kreuze, Multiplikation dieser Summe mit 100 und Division durch die Zahl der untersuchten Knollen. Vgl. Bechhold und Erbe (1). Bei Glas, Quarz und Holz wurde nur je eine Knolle geprüft.

geschnürt der bei der Kupferprobe üblichen Wärmebehandlung ausgesetzt wurden, so blieben sie unverändert.

Wenn in einen 5 mm weiten Bohrschacht in einer Knolle von Direktor Johannsen (Vital) ein 5 mm dickes und 20 mm langes trockenes Stück eines Laminariastäbchens eingesteckt und die Knolle nach Zukleben der Öffnung der bei der Kupferprobe üblichen Wärmebehandlung ausgesetzt wurde, so quoll das Stäbchen auf 7 mm Durchmesser, übte also von innen dauernd einen starken Druck auf das umliegende Gewebe aus. Trotzdem war die entstandene hellbraune Verfärbung nicht stärker, sondern eher geringer als durch die Verletzung der Knolle bei der Anlegung des Bohrschachtes allein zu erwarten gewesen wäre. Die Druckwirkung ist also offenbar nicht an dem Zustandekommen der in Frage stehenden Gewebeveränderungen beteiligt.

### 3. Wirkung der Zellzerstörung.

Drei Knollen von Direktor Johannsen (Vital) wurden der Kupferprobe unterworfen, wobei das Kupferblech wie folgt variiert wurde: Knolle 1: ein weniger als  $\frac{1}{2}$  mm dickes Blech mit scharfer Schneide, Knolle 2 und 3: je ein 1 mm dickes Blech mit rauher Oberfläche und stumpfem Ende, dessen vordere, in die Knolle eingedrückte Schmalkante mit bis zu 3 mm weitreichenden scharfen Verästelungen versehen war. Ergebnis:

- Knolle 1: Färbung bis zu 11 mm breit.
- Knolle 2: Färbung bis zu 15 mm breit.
- Knolle 3: Färbung bis zu 18 mm breit.

Auch Klinkowski (3) findet bei Verwendung eines dicken rauen Kupferblechs mit stumpfer Schneide in Übereinstimmung mit unserem Befund eine breitere verfärbte Zone als bei Verwendung eines glatten dünnen Blechs mit scharfer Schneide.

Zusammenfassend folgt aus diesen Versuchen, daß ein auf das Gewebe dauernd ausgeübter Druck nicht imstande ist, die in Frage stehende Gewebeveränderung hervorzurufen, daß dagegen eine einmalige, durch einen beliebigen Fremdkörper hervorgerufene Zellzerstörung sie hervorrufen kann.

Jedoch zeigen die folgenden Versuche, wie weit dieser grundlegende Faktor durch besondere Umstände variiert werden kann: In acht Knollen von Direktor Johannsen Vital wurden Quarz- bzw. Kupferstreifen eingestochen. Die Streifen wurden sofort wieder herausgezogen, die Einstichöffnungen teils mit Paraffin verklebt, teils offen gelassen und die Knollen (für jeden Versuch zwei) der bei der Kupferprobe üblichen Wärmebehandlung unterzogen. Danach zeigte sich:

	1. Knolle	2. Knolle
Quarz offen . . . . .	Spur Färbung	starke Färbung
Quarz verschlossen . . .	einseitig starke Färbung	starke Färbung (teilweise rosa)
Kupfer offen . . . . .	keine Färbung	starke Färbung
Kupfer verschlossen . . .	starke Färbung	starke Färbung (teilweise rosa)

Obwohl der Quarzstreifen  $1\frac{1}{2}$  bis 2 mm dick war, also beim Hineinstechen sehr viel mehr Gewebe zerquetschte als das weniger als  $\frac{1}{2}$  mm dicke Kupferblech, sind bei letzterem die Färbungen eher breiter, jedenfalls nicht schmäler als bei ersterem. Vielleicht sind Spuren von Cu, die beim Herausziehen des Kupferblechs im Stichkanal hängen blieben, die Ursache der relativ starken Verfärbung.

Die folgenden Gefrierversuche, die parallel an Knollen aus abgebauten und vitalen Herkünften ausgeführt wurden, führen zu dem gleichen Ergebnis von der primären Bedeutung der Zellzerreißung:

Werden Kartoffelknollen etwa eine Minute lang in flüssige Luft getaucht, so zerspringen sie in mehrere Teile. Werden diese Teile dann der bei der Kupferprobe üblichen Wärmebehandlung unterzogen, so färben sie sich, gleichgültig ob sie von Vital- oder von Abbauknollen stammen, bis auf einige dicht hinter der Schale liegende Randbezirke vollkommen schwarz.

Zerreißt man dagegen Vital- oder Abbauknollen mit der Hand in einige Teilstücke, so bleiben diese unverändert, wenn man sie der bei der Kupferprobe üblichen Wärmebehandlung unterwirft.

Werden die Knollen aber in eine dicke Hülle aus Paraffin gepackt, die außen mit Leukoplast fest umschlossen ist, so daß die Knollen nicht wie bei dem vorigen Versuch zerspringen können, und werden sie so etwa drei Minuten in flüssige Luft getaucht, so zeigen sich nach der Wärmebehandlung einige nicht ganz durch die Knolle hindurchgehende Risse, obwohl die Paraffinhülle noch intakt war. An diesen Rissen ist eine geringe Braunfärbung zu beobachten; im übrigen sind die Knollen, wohl infolge des langsameren Gefrierens durch die Isolierschicht unverändert. Es muß aber doch eine Einwirkung auf das Gewebe erfolgt sein, denn beim Liegen der aufgeschnittenen Knollen an der Luft dringen von den Schnittflächen aus langsam Braunfärbungen mit scharfer Grenze weiter vor. Auch hierbei unterscheiden sich Abbauknollen nicht von Vitalknollen.

Knollen, die 24 Stunden bei zirka  $-3^{\circ}\text{C}$  lagen und dabei hart gefroren waren, zeigten, auch nach der anschließenden Wärmebehandlung, keine Risse. Wurden sie dann aufgeschnitten, so zeigten sie anfänglich

keine Veränderungen. Trotzdem hat das Gewebe offenbar eine Veränderung (ebenso wie bei den Versuchen in flüssiger Luft mit Paraffinhülle) erlitten, denn beim Liegen der aufgeschnittenen Knollen an der Luft färbte sich die Schnittfläche bald fleckig braun, und unter starker Flüssigkeitsabsonderung drang die braune Zone langsam nach innen vor. Ein Unterschied zwischen Vital- und Abbauknollen war auch hierbei nicht festzustellen.

Das Gefrieren einer Kartoffelknolle führt also offenbar zu einer Zellschädigung, die durch die ganze Knolle hindurchgeht, und die bei raschem Gefrieren gründlicher ist als bei langsamem. Diese Zellschädigung durch Gefrieren leitet ebenso die Schwarzfärbung ein wie die Zellzerstörung durch einen hineingesteckten Fremdkörper.

### C. Schlußfolgerungen.

Wenn wir jetzt versuchen, aus dem ganzen vorgebrachten Versuchsmaterial eine Theorie der Kupferprobe abzuleiten, so müssen wir dabei berücksichtigen, daß manche der angestellten Versuche nicht zu vollkommen eindeutigen Ergebnissen geführt haben; dies liegt daran, daß jede Kartoffelknolle ein Individuum ist und man deshalb jeden Versuch an einer großen Anzahl Knollen hätte ausführen müssen, um daraus statistisch Schlüsse ziehen zu können; dazu stand uns aber nicht immer das notwendige Material und die notwendige Zeit zur Verfügung. Wenn man aber alle Ergebnisse so zusammenfaßt, daß ein möglichst in sich geschlossenes Bild entsteht, so hat letzteres doch einen ziemlich großen Grad von Wahrscheinlichkeit für sich.

Es steht wohl fest, daß alle Knollen, vitale wie abgebaute, sowohl eine genügende Menge Tyrosinase, als auch eine genügende Menge Melaninbildner enthalten, um eine intensive Dunkelfärbung des Gewebes zustande kommen zu lassen.

Das folgt aus den Versuchen unter I 1 und I 2, ebenso wie aus den Rührversuchen mit Kupfermetall in Brei und aus den Gefrierversuchen. — Die beobachteten kleineren Differenzen sind gegenüber der absoluten Menge der fraglichen Substanzen bedeutungslos, wenn sie auch für die Biologie der Kartoffel sehr interessant sein mögen. Ja auch die viel größeren Differenzen, die sich in der räumlichen Verteilung dieser Substanzen in der Knolle zeigen, sind deshalb bedeutungslos, weil sie ergeben, daß die Zonen zwischen Gefäßbündel und Schale am reichsten sind an Tyrosinase und an Melaninbildnern, während doch die stärkste Ausbreitung der bei der Kupferprobe beobachteten Gewebeveränderungen stets innerhalb der zentralen gelegenen Teile stattfindet (vgl. Abb. 1).

Dagegen scheint ein Unterschied im Oxydations-Reduktionssystem der Knolle zwischen vitalen und ab-

gebauten Knollen zu bestehen, und das ist offenbar der Punkt, an dem die Kupferprobe angreift.

Dieser Unterschied, der aus vielen anderen Beobachtungen ebenfalls hervorgeht, wird durch die Kupferprobe in besonders einfacher und augenfälliger Weise demonstriert.

Zunächst steht fest, daß in der Kartoffelknolle ein solches, leicht ansprechendes Oxydations-Reduktions-System vorhanden sein muß, also ein System aus mehreren, unter Sauerstoff- bzw. Wasserstoffs austausch leicht in einander übergehenden Stoffen, das imstande ist, einen anderen Körper, der in dieses System hineingebracht wird, je nach der gegenseitigen Lage der Reduktions-Oxydations-potentiale zu oxydieren oder auch zu reduzieren. Denn ein in einen Kartoffelbrei von 37° C unter Luftabschluß hineingebrachtes Kupferblech wird oxydiert (Ursache der Löslichkeit von Kupfer in Kartoffelsubstanz), während durch Einwirkung von wenig Luftsauerstoff auf Kartoffelbrei entstandene rosagefärzte Oxydations-Produkte bei nachfolgendem Luftabschluß unter Bleichung wieder reduziert werden. (In unserer ersten Arbeit (1) wurde berichtet, daß auch Farbstoffe reduziert werden können). Das elektrische Potential dieses Reduktions-Oxydations-Systems der Kartoffelknolle konnte von Wartenberg und Hey (22) gemessen werden.

Da die Löslichkeit von Kupfer in Kartoffelbrei unter Luftabschluß im allgemeinen für Vitalknollen größer ist als für Abbauknollen, so liegt der Schluß nahe, daß das Oxydations-Reduktions-System bei Vital- und Abbauknollen wahrscheinlich quantitativ verschieden zusammengesetzt ist, in dem Sinne, daß es bei vitalen Knollen zugunsten der oxydierenden, bei Abbauknollen zugunsten der reduzierenden Komponente verschoben ist. Zu derselben Schlußfolgerung führen die Ergebnisse der Potentialmessungen von Wartenberg und Hey (22). Das Gleiche drückt die Feststellung von Pfankuch und Lindau aus, daß das wesentliche Kennzeichen des Stoffwechsels der Abbauknolle die Beschleunigung und Verstärkung reduktiver Umsetzungen sei. Da die Oxydasetätigkeit, also die Aktivierung des Luftsauerstoffes, bei gesunden und abgebaute Knollen nicht verschieden ist (S. 268), so schließen Pfankuch und Lindau, daß der Abbau nicht in einer Störung des aeroben Teils des Stoffwechsels, sondern in einer solchen des anaeroben Teils zum Ausdruck kommt. Diese anaeroben Oxydoreduktionen werden wahrscheinlich vermittelt durch die beiden Oxydationsstufen der Ascorbinsäure, des Glutathions, der Zuckerphosphorsäure und ihrer Spaltprodukte usw; über das Zusammenwirken dieser Stoffe wurden von Pfankuch (17, 23, 24) nähere Vorstellungen entwickelt.

Von dieser wesentlichen Verschiedenheit zwischen Vital- und Abbauknollen nehmen wir an, daß sie bei den Knollen von vornherein vorggebildet vorhanden ist.

Die zweite Frage ist nun: Wie greifen die bei der Kupferprobe stattfindenden Vorgänge in diese Verschiedenheit ein, sodaß sie in Erscheinung tritt?

Der grundlegende Eingriff ist die mechanische Zerstörung der Zellen, die auf der Bahn des in die Knolle hineingesteckten Kupferblechs liegen.

Dadurch wird zunächst bei allen Knollen, vitalen wie abgebauten, in diesen primär zerstörten Zellen die Melaninbildung ausgelöst. Das geschieht entweder nach der Seite 262 beschriebenen Vorstellung von Schmalfuß schon dadurch, daß jetzt mehr Sauerstoff in diese Zellen eindringen kann, als die normalen Lebensprozesse bewältigen können, oder nach der Seite 263 geschilderten Vorstellung dadurch, daß die vorher voneinander isolierten Komponenten, Ferment und Melanogen, durch die Zerstörung der Zellstruktur miteinander in Berührung gebracht werden.

In jedem Fall haben wir es in diesen zerstörten Zellen mit Orten zu tun, an denen das normale Stoffwechselgleichgewicht nicht mehr besteht, an denen die Melaninbildung in vollem Gange ist, und die sich im Kleinen so verhalten wie ein gründlich zerriebener Kartoffelbrei im Großen, die also, entsprechend den Messungen von Wartenberg und Hey an Kartoffelbreien, auch ein Redox-potential zeigen. Sie stellen also ein Redox-System von bestimmter Oxydations- bzw. Reduktionskraft dar.

Wir stellen uns nun vor, daß die Wirkung dieses Redoxsystems eine doppelte ist: Sie bewirkt erstens die Auflösung von Kupfer am Kupferblech; für diese Wirkung genügt auch die schwächere Oxydationskraft dieses Systems bei der Abbauknolle (wenn hier auch etwas weniger Kupfer gelöst wird); es führt zweitens durch seine Oxydationskraft während der Wärmebehandlung zu einer Schädigung der Membranen, die die zerstörten Zellen von den benachbarten intakten trennen. Dadurch erfolgt in einer solchen benachbarten Zelle die gleiche Störung des Stoffwechsels, wie in der primär zerstörten. Diese so „sekundär geschädigte“ Zelle wirkt auf gleiche Weise auf eine dritte Zelle ein, und so fort. Auf diese Weise pflanzt sich diese Gewebeveränderung nach und nach immer weiter fort und kann große Teile der Kartoffelknolle ergreifen<sup>1)</sup>.

Diese zweite Wirkung des Redox-Systems in der durch das Hineinstechen des Kupferblechs mechanisch zerstörten Zelle kommt aber nur bei der Vitalknolle zustande. Die geringere Oxydationskraft des bei der Abbauknolle in Tätigkeit gesetzten Redox-Systems genügt nicht zu einer so tiefgreifenden Schädigung der benachbarten Zellen. Deshalb greift bei der Abbau-

<sup>1)</sup> Auch Schmalfuß (12) hatte festgestellt, daß die Melaninbildung von geschädigten Zellen auf unverletzte Nachbarzellen übergreifen kann.

k n o l l e die G e w e b e v e r ä n d e r u n g n i c h t w e i t e r . Nun ist überall da, wo die Zellen in der beschriebenen Weise geschädigt sind und der normale Stoffwechsel zerstört ist, die freie Betätigung des Systems Tyrosinase-Melanogen möglich geworden, wenn nur Luftsauerstoff in genügender Menge zur Verfügung steht. Letzterer diffundiert bei der Kupferprobe längs des eingeführten Kupferblechs langsam in den Stichkanal und von da aus seitwärts in das Gewebe. Hier führt er in dem ganzen Bereich des veränderten Gewebes (das bei der Abbauknolle sehr schmal, bei der Vitalknolle aber breit ist) zu einer sichtbaren Melanin-ausscheidung (Braunfärbung).

Das Nachdringen des Luftsauerstoffs und deshalb auch das Auftreten der Schwarzfärbung braucht aber nicht Schritt zu halten mit der beschriebenen Ausbreitung der Gewebeveränderung. Nur wenn der Sauerstoff zufällig (was aber meist der Fall ist) ebenso schnell nachdringen kann, wie diese Gewebeveränderung fortschreitet, ist die Schwarzfärbung sofort nach dem Aufschneiden der Knollen in dem veränderten Bereich sichtbar. Dringt der Sauerstoff aber aus bestimmten Gründen, z. B. weil das Kupferblech besonders fest an das anliegende Gewebe angepreßt oder weil die Einstichstelle verklebt worden ist (vergl. S. 274), langsam nach, so folgt daraus die vielfach (vergl. 1.) beobachtete Erscheinung, daß die Knolle sofort nach dem Aufschneiden unverändert aussieht, daß dann aber sehr rasch, z. B. nach einer halben Stunde, die veränderte Zone sichtbar wird, indem sie sich in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmäßig zuerst rosa, dann leuchtend lachsrot, dann schwarzbraun färbt.

Der auf diesen Seiten dargelegte Erklärungsversuch, der in großen Zügen schon früher (4) angedeutet wurde und dem sich auch Klinkowski (3) anschließt, wird durch eine große Reihe von anderen Beobachtungen gut gestützt. Daß in dem bei der Kupferprobe veränderten Gewebe ein großer Teil der Zellmembranen zerstört sein muß, wird wahrscheinlich gemacht durch die auf ein Vielfaches gestiegene elektrische Leitfähigkeit, die größere Verdunstungsgeschwindigkeit von Wasser, die geringere mechanische Festigkeit und Elastizität und die auf ein Vielfaches gestiegene Diffusionsgeschwindigkeit von gelöstem Kupfer (vergl. S. 281). Ferner steht der hier angenommene Ausbreitungsmechanismus der Gewebeveränderung auch im Einklang mit der oft beobachteten, sehr unregelmäßigen Gestalt der veränderten Zone.

Worin besteht aber nun die spezifische Wirkung des Kupfers? Der bisher beschriebene Mechanismus kann ebenso gut durch irgend einen chemisch indifferenten Fremdkörper ausgelöst werden. Tatsächlich wurde aber beobachtet, daß in vielen Fällen das Kupfer anders wirkt als indifference Körper und die mit Kupfer angestellte „Kupferprobe“ bessere Übereinstimmung mit dem Pflanzversuch zeigt als die mit einem indifferenten Körper angestellte, daß außerdem bei Verwendung

oxydierter Kupferbleche, bei denen mehr Kupfer in Lösung geht, die veränderte Zone auch breiter wird (S. 282). Für diese spezifische Wirkung fehlen uns vorläufig noch nähere Anhaltspunkte, doch kann man sich gut vorstellen, daß z. B. in manchen Knollen Stoffe vorhanden sind, die das Oxydations-Reduktions-System an der Entfaltung seiner Wirksamkeit hemmen, und daß diese Stoffe durch das gelöste Kupfer unschädlich gemacht werden. Wie diese spezifische Kupferwirkung nun auch im Einzelnen vor sich gehen mag, so ist sie jedenfalls durch die Erfahrung sichergestellt und führt dazu, daß die „Kupferprobe“ in ihrer speziellen Ausführungsform mit einem Kupferblech ein einfach auszuführendes „diagnostisches Hilfsmittel zur Beurteilung des Gesundheitszustandes von Kartoffelknollen darstellt.“ (Klinkowski).

Wir glauben mit diesem Beitrag die verwickelten Erscheinungen, wie sie durch die Kupferprobe und ähnliche Eingriffe in die Kartoffelknolle hervorgerufen werden, in mancher Beziehung aufgeklärt zu haben. Wir hoffen, daß diese Ergebnisse auch mit dazu beitragen werden, daß die Ursache des Versagens der Kupferprobe bei manchen Kartoffelknollen aufgeklärt werden kann, und daß vielleicht auf diesem Wege eine wirklich ganz allgemein verwendbare Methode der Diagnose des Kartoffelabbaus gefunden wird.

#### D. Zusammenfassung.

1. Die Gewinnung von Tyrosinaselösungen aus Kartoffelknollen wird beschrieben.
2. Als empfindliches Reagens zum Nachweis von Oxydase in Kartoffelsubstanz wird eine Mischung von Brenzkatechin und Glykokoll (je 1%) erprobt. Tyrosin ist viel weniger empfindlich.
3. Bei der Prüfung verschiedener Teile von Kartoffelknollen auf ihren Gehalt an Tyrosinase zeigt sich, daß die Randteile der Knolle in der Regel mehr davon enthalten als das Innere; jedoch scheint das Verhalten verschiedener Sorten verschieden zu sein.
4. Bei der Prüfung von Knollen verschiedener Herkunft ließ sich nicht mit Sicherheit ein Unterschied im Oxydasegehalt bei vitalen und abgebauten Knollen feststellen.
5. Breie aus gekochten Kartoffeln ergeben mit Tyrosinaselösungen Braunfärbungen, die einen Gehalt an Melaninbildnern anzeigen. Die von den Randteilen der Knolle gewonnenen Breie färben sich etwas dunkler, enthalten also etwas mehr Melaninbildner als die aus dem Knollenzentrum stammenden Breie. Zwischen verschiedenen Kartoffelsorten zeigen sich nur geringe Unterschiede.

6. Gekochte Preßsätze von Kartoffelknollen ergeben mit Tyrosinase-lösungen Braunfärbungen, die einen Gehalt an Melaninbildnern anzeigen. Durch Behandeln der gekochten Preßsätze mit HCl in der Hitze bilden sich ebenfalls braune Produkte. Die Färbungen stehen vielleicht in einer Beziehung zur Vitalität der Knollen. Die Prüfung der gekochten Preßsätze mit Nitroso-naphthol zeigt einen bei allen untersuchten Preßsäften etwa gleichen Gehalt an Tyrosin von zirka 0,3 % an.
7. Schnitzel aus Kartoffelknollen, die mit konzentrierter Salzsäure einige Stunden gekocht werden, ergeben bis zu 20 % ihres Trockengewichts braune melanin- bzw. huminähnliche Substanzen. Die Randteile einer Knolle ergeben dabei eine erheblich höhere Ausbeute an diesen Huminen als das Knolleninnere. Die Ausbeute ist bei verschiedenen Sorten sehr verschieden; ob dabei die Vitalität der Knollen einen Einfluß hat, kann nicht festgestellt werden.
8. Es wird die Einwirkung einer Reihe von Reduktionsmitteln auf frisch hergestellte Breie von rohen Kartoffeln untersucht. Am bemerkenswertesten zeigt sich Natriumsulfit: Ein scharf bestimmbarer, für alle untersuchten Kartoffelsorten fast gleicher Zusatz von 0,5 bis 1 mg pro ccm Brei ist der im Minimum nötige Zusatz, der den Kartoffelbrei dauernd weiß hält.
9. Einige als „Antioxygene“ geltende Phenole und Amine wurden zu frisch hergestellten Breien aus rohen Kartoffeln zugesetzt. Sie vermögen deren Braunfärbungen an der Luft nicht zu beeinflussen.
10. Die „Kupferprobe“ verläuft bei Verwendung von sterilisierten Knollen und Kupferblechen in der normalen Weise; deshalb sind Einflüsse von Mikroorganismen nicht an dem Zustandekommen der charakteristischen Gewebeveränderungen beteiligt.
11. An Hand früher beschriebener Versuche wird die Auflösung von metallischem Kupfer in Kartoffelsubstanz unter verschiedenen Bedingungen klargelegt.
12. Es wird festgestellt, daß die chemischen Einwirkungen von gelöstem Kupfer auf die Bestandteile der Kartoffelknolle nur gering sind.
13. Die Verwendung von Holz-, Glas- oder Quarzstreifen statt Kupferstreifen bei der „Kupferprobe“ führt zwar zu ähnlichen Erscheinungen wie die von Kupfer, kann aber das Kupfer für praktische diagnostische Zwecke nicht ersetzen.
14. Eine Druckwirkung ist an dem Zustandekommen der Gewebeveränderungen bei der Kupferprobe nicht beteiligt, sondern

die primäre Ursache ist die durch die Einführung des Fremdkörpers stattfindende Zellzerstörung.

15. Eine auf anderem Wege, z. B. durch Gefrierenlassen, hervergerufene Zellzerstörung hat deshalb im wesentlichen die gleichen Folgen.
  16. Es wird versucht, aus dem gewonnenen Versuchsmaterial den Verlauf der verwickelten Vorgänge bei der Kupferprobe zu erklären.
- 

Es ist uns eine angenehme Pflicht, der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem für ihre Unterstützung mit Kartoffelmaterial, sowie dem Herrn Reichsminister für Ernährung und Landwirtschaft für Gewährung von Mitteln zur Durchführung dieser Untersuchung zu danken.

Besonders dankbar sind wir den Herren Dr. Klinkowski und Dr. Hans Wartenberg, die uns Gelegenheit gaben, durch regen Gedankenaustausch manche strittigen Fragen zu klären und solche Probleme herauszuheben, deren Lösung erst der Zukunft vorbehalten sein dürfte.

---

### E. Literaturnachweis.

- 1 Bechhold, H. und Erbe, F. Arbeiten a. d. Biolog. Reichsanstalt f. Land- und Forstwirtschaft, **20** (1932), 111.
- 2 Kaho, H. Phytopathologische Zeitschrift, **8** (1935), 323.
- 3 Klinkowski, M. Phytopathologische Zeitschrift, **8**, S. 421 u. flg. (1935).
- 4 Bechhold, H., Gerlach, W. und Erbe, F. Angewandte Chemie, **47** (1934), 26.
- 5 Oppenheimer, C. Fermente, V. Auflage, S. 1804—21.
- 6 Fürth, O., in Handbuch der Biochemie, I. Band, S. 944 (1924).
- 7 Raper, H. S. Fermentforschung, **9** (1928), 206. Biochem. Journal, **21** (1927), 89.
- 8 Haehn, H. Biochem. Zeitschrift, **105** (1920), 169.
- 9 Haehn, H. und Stern, J. Fermentforschung, **9** (1928), 395.
- 10 v. Szent-Györgyi, A. Biochem. Zeitschrift, **162** (1925), 399.
- 11 Schmalfuß, H., Barthmeyer, H. und Brandes, H. Biochem. Zeitschrift **189** (1927), 229.
- 12 Schmalfuß, H. und Barthmeyer, H. Biochem. Zeitschrift, **190** (1927), 424.
- 13 Friedheim, E. A. H. Naturw., **21** (1933), 177.
- 14 Mühlbauer, M. Fermentforschung, **12** (1930/31), 273.
- 15 Chodat, R. in: Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 1, Heft 3 (1925), S. 377 ff.
- 16 Wieland, H. und Sutter, H. B., **63** (1930), 66.
- 17 Pfankuch, E. und Lindau, G. Biochem. Zeitschrift, **277** (1935), 129.
- 18 Raper, H. S. und Wormall, A. Biochem. Journal, **17** (1923), 454.
- 19 Haehn, H. Zeitschrift für Spiritusindustrie, **43** (1920), 90, 104, 111.
- 20 Gerngross, O. Zeitschrift für angew. Chemie, **45** (1932), 775.
- 21 Moureau, Ch. und Dufraisse, Ch. Compt. rend. **174** (1922), I. 258.
- 22 a) Hey, A. Arbeiten der Biol. Reichsanstalt, **20** (1932), 79.  
 b) Wartenberg, H., Hey, A. und Urhan, O. Arbeiten a. d. Biolog. Reichsanstalt, **21** (1935), 333 u. flg.  
 c) Wartenberg, H., Hey, A. und Tahsin, A. Arbeiten a. d. Biolog. Reichsanstalt, **21** (1935), 499 u. flg.  
 d) Wartenberg, H., Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik, **24** (1935), S. 711 u. flg.
- 23 Pfankuch, E. Biochem. Zeitschrift, **279** (1935), 115.
- 24 Pfankuch, E. Naturw., **22** (1934), 821.

# Studien über die „Dehydrasewirkungen“ gesunder und abbaukranker Kartoffelknollen.<sup>1)</sup>

Von

Hans Wartenberg und Gero Lindau.

## A. Einleitung.

Doby (7) kam bei seinen Untersuchungen über die Oxydasen, „Oxygenasen“ und Peroxydasen abbaukranker und gesunder Kartoffeln zu dem Schluß, daß die Atmungsintensität kranker Pflanzen stärker sein müsse als diejenige der gesunden. Thung (26) konnte dies für Blätter und Whitehead (29) konnte es für Knollen der Kartoffelpflanze experimentell bestätigen.

Im Anschluß an die Feststellungen von Boas (4), daß Gewebestücke abbaukranker Kartoffelknollen leichter als solche gesunder in einen stürmischen Ablauf anaerober Prozesse geraten, und auf Grund eigener Beobachtungen vermuteten Marx und Merkenschlager (12) im Abbauzustand eine Veränderung in den oxydoreduktiven Vorgängen, einen „ersten Schritt zur Enthemmung des enzymatischen Apparates“. Die Veränderung soll dadurch zum Ausdruck kommen, daß mit dem Abbau die Leistung des aeroben Energiewechsels fällt und die des anaeroben steigt.

Wartenberg und Hey (27) hatten gefunden, daß indifferente Metallelektroden in Gewebebreiaufschlämmungen von Kartoffeln ein konstantes Redoxpotential annehmen. Ferner haben sie festgestellt, daß kranke und gesunde Knollen an den Werten der konstanten Potentiale zu unterscheiden sind. Die Gewebebreie kranker Knollen verursachen negativere Potentialwerte als diejenigen der gesunden.

Diese Beobachtungen waren die Veranlassung zu den Untersuchungen, welche in der vorliegenden Abhandlung beschrieben werden.

Die Fermentwirkungen der Oxydoreduktionssysteme der Kartoffelpflanze sind schon oft Forschungsobjekte gewesen. Es sind uns folgende

<sup>1)</sup> Die Arbeit wurde von Lindau in den Jahren 1933 und 1934 im Kaiser-Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie in Dahlem mit Unterstützung des Herrn Reichsministers für Ernährung und Landwirtschaft in Angriff genommen und von Wartenberg mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft in der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in den Jahren 1934 und 1935 zu Ende geführt. Wir möchten an dieser Stelle dem Herrn Reichsminister und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die uns gewährte Hilfe, die allein die Durchführung der Arbeit ermöglichte, unseren aufrichtigen Dank aussprechen.

Arbeiten bekannt geworden, die sich diesbezüglich mit den Abbaukrankheiten der Kartoffel befassen.

Oxydase: Sorauer (25) zeigte 1908 auf Grund von Untersuchungsergebnissen, die ihm Grün mitgeteilt hatte, daß gesunde Knollen stärkere Tyrosinasewirkungen erzielten als kranke. Doby (7) fand 1911/1912 das Verhältnis umgekehrt. Bunzel (6) erzielte 1914 Untersuchungsergebnisse, nach welchen das Verhältnis zwischen Blättern und zwischen Knollen gesunder und kräuselkranker Stauden im Sinne der Befunde von Doby (7) ausfiel. Boas und Merkenschlager (5) konnten 1925 bei ihren Untersuchungen über die Chininwirkung und den Freilauf der Enzyme keinen Unterschied der Tyrosinasewirkungen gesunder und abbaukranker Knollen finden. Dagegen berichteten später (1932) Marx und Merkenschlager (12) mit Sorauers Feststellungen gleichlautend, daß mit krankem Knollenmaterial geringere Oxydasewirkungen (Phenoloxidase und Metaoxydase, Benzidinprobe nach Boas) als mit gesundem zu erzielen waren. 1930 fand Rusinow (23) mit der Hydrochinonprobe einen höheren „Oxydasegehalt“ in Blättern und Stengeln kräuselkranker Stauden als in solchen von gesunden Stauden. Schließlich vermerkten Ruhland und Wetzel (22) 1933 in einer Arbeit, daß sie für die Blattrollkrankheit eine erhöhte Oxydasewirkung bestätigen können, daß sie jedoch bei Knollen kräusel- und mosaikkranker Stauden eine geringere als bei gesunden festgestellt haben.

Die Widersprüche dieser Ergebnisse können wahrscheinlich auf ungleiche Untersuchungszeiten zurückgeführt werden, denn Pfankuch und Lindau (18) konnten 1935 feststellen, daß kranke Knollen am Anfang der Lagerungszeit größere Phenolasewirkungen zeigten als gesunde, daß aber der Unterschied nach dreimonatiger Lagerung verschwunden war. Nach Haehn (9) wird der „Tyrosinasegehalt“ im Laufe des Winters geringer, und ungleiche Änderungen der Fermentaktivität kranker und gesunder Knollen sind aus Klinkowskis (11) Katalaseuntersuchungen bekannt, so daß ein Überkreuzen des Verhältnisses nicht ausgeschlossen ist. Außerdem muß in Betracht gezogen werden, daß die Inaktivierung der Oxydase durch das Oxydationsmittel (vergl. Wieland und Sutter 30) oder durch das Oxydationsprodukt (vergl. Pfankuch und Lindau 18), ihre Reaktivierung durch Redoxsysteme tieferen Potentiales (vergl. Pfankuch und Lindau, 18, und Pfankuch, 19), ferner ihre Reaktivierung, die dadurch gegeben ist, daß inaktivierende Oxydationsprodukte in unlösliche Körper verwandelt werden (vergl. Wartenberg und Mitarb., 27), daß dies alles Vorgänge sind, die je nach den Versuchsbedingungen und der vom Abbau unabhängigen Zufälligkeit des Materials ganz verschiedene und widersprechende Ergebnisse verursachen können.

Oxygenase? In der älteren Literatur sind Angaben über Oxygenasewirkungen zu finden. Die Annahme einer Oxygenasewirkung fußt darauf, daß das Untersuchungsobjekt Guajakharzlösung ohne zugefügtes Peroxyd

bläut. Die Guajakreaktion ist als eine Dehydrierung der  $\alpha$ -Guajakonsäure durch ein Peroxydase-Peroxydsystem anzusehen. Wenn sie ohne zugefügtes Peroxyd abläuft, ist anzunehmen, daß ein Körper, der dem Untersuchungsobjekt eigen ist, ein Peroxyd bildet, das mit der Peroxydase die  $\alpha$ -Guajakonsäure dehydriert. Es wurde angenommen, daß ein autoxydabler Körper von Fermentcharakter in seinem oxydierten Zustande ein Peroxyd ist und die oben beschriebene Rolle spielt. Dieser hypothetische Körper wurde Oxygenase genannt. Heute ist diese Vorstellung nicht mehr unbedingt haltbar. Es ist erstens nicht ausgeschlossen, daß die  $\alpha$ -Guajakonsäure von einem Oxydase-O<sub>2</sub>-System direkt dehydriert wird. Ferner ist es zweitens nicht ausgeschlossen, daß ein Oxydase-O<sub>2</sub>-System einen dritten Körper, der kein Ferment zu sein braucht, zum Peroxyd oxydiert und daß dieser nun in Verbindung mit der Peroxydase die  $\alpha$ -Guajakonsäure dehydriert. In beiden Fällen wäre das Ergebnis dieser Guajakreaktion von der Aktivität der Oxydase abhängig, so daß man es als Wirkungsgröße der Oxydase ansprechen könnte. Die zweite Art wäre in dem Falle ausgeschlossen, in welchem die Peroxydaseaktivität so gering ist, daß sich Peroxyde anhäufen könnten. Aus der Erfahrung, daß die Guajakreaktion nach dem Zufügen von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> immer sehr beschleunigt abläuft, kann man schließen, daß dieser Fall nicht zu erwarten ist. Außerdem würde die Anhäufung der Peroxyde durch die Katalase verhindert werden. In der neueren Literatur wird deshalb die Guajakreaktion, welche ohne methodisches Hinzufügen von Peroxyd abläuft, als Oxydasewirkung beschrieben.

Wir zitieren die Literaturstellen, ohne über die Richtigkeit der älteren oder neueren Vorstellungen entscheiden zu wollen, und nennen dabei die Methode „die vereinfachte Guajakreaktion“. Doby (7) fand bezüglich der Abbaukrankheiten, daß kranke Knollen bei der vereinfachten Guajakreaktion durchschnittlich eine etwas höhere Wirkung erzielten als gesunde, daß aber das Gesamtergebnis doch unsicher war. In neuerer Zeit glaubte Kahō (10) unter den Bedingungen der vereinfachten Guajakreaktion eine größere Oxydationsgeschwindigkeit der gesunden Kartoffeln erkennen zu können, fand aber bei näheren Untersuchungen viele Ausnahmen, bei denen kein Unterschied zwischen Vital- und Abbauknollen zu erkennen war.

**Peroxydase:** Nach Sorauer (25) (1908), dem Untersuchungsergebnisse von Grüss zur Verfügung standen, sind die Peroxydasewirkungen bei kranken Knollen intensiver als bei gesunden. Doby (7) berichtete 1911 bis 1912 über ähnliche Ergebnisse, wobei bemerkt werden muß, daß er die Übereinstimmungen mit den Sorauer'schen-Grüss'schen Beobachtungen in der Schlußfolgerung stärker betonte als während des Tatsachenberichtes seiner Abhandlung. 1930 schrieb Schweizer (24), daß die Peroxydasereaktion im nekrotischen Phloëm abbaukranker Pflanzen ausblieb, wogegen

sie im Phloëm gesunder Pflanzen deutlich in Erscheinung trat. Schweizer machte auch eine Bemerkung, daß die Peroxydasereaktion bei abbaukranken Knollen stärker als bei gesunden sei. Aus seinen Ausführungen geht aber nicht hervor, ob dieser Bemerkung eigene Untersuchungen zugrunde liegen. Rusinow (23) fand 1930, daß Blätter und Stengel kräuselkranker Stauden einen größeren „Peroxydasegehalt“ haben als solche von gesunden Pflanzen. Er hatte ausreichend viel Material verarbeitet, um sein Ergebnis mit Fehlerberechnungen genügend sichern zu können.

Katalase: Boas (3) untersuchte die Katalasewirkung gesunder und abbaukranker Kartoffelpflanzen mit zerquetschten Gewebsstücken der Staudenstengel. Er fand Unterschiede zwischen gesunden und kranken Stengeln, „insofern als die kranken Stengel mehr Katalase enthalten als die gesunden. Doch haben andere Versuche nicht immer gleichlautende Resultate ergeben“. 1932 gab Klinkowski (11) Ergebnisse von Katalaseuntersuchungen bekannt, die er mit Trockenpulvern abbaukranker und gesunder Kartoffelknollen angestellt hatte. Er fand, daß kranke Knollen anfänglich hohe Wirkungswerte erzielen, daß diese aber im Verlauf der Lagerung zu sehr niedrigen Werten absinken. Die Veränderung der Katalaseaktivität mehr oder weniger gesunder Knollen zeigte dagegen nicht den steilen Abfall, sie erzielten anfänglich niedrigere Werte als die kranken und erreichten am Ende der Lagerungszeit auch nicht deren geringe Werte.

Dehydrase: 1932 berichteten Marx und Merkenschlager (12) über Versuche, bei denen sie Trockenpulver von abbaukranken und gesunden Knollen auf Methylenblaulösung wirken ließen. Sie fanden keinen Unterschied. Auch Bechhold und Erbe (1), welche, ebenso wie Merkenschlager (13), feststellten, daß das frische Kartoffelgewebe Methylenblau fast völlig reduziert, konnten keine Beziehungen zwischen der Schwankung im Reduktionsvermögen der Knollen und der Schwankung des Gesundheitszustandes finden.

1935 beschrieb Kahō (10) Versuche, bei welchen Guajakblau, das durch Oxydation im Knollenauszug der Kartoffel entstanden war, in derselben Lösung wieder reduziert wurde. Er fand einen ausgesprochenen Zusammenhang „zwischen der Vitalität der Kartoffel und der Geschwindigkeit der Guajakreaktion: die Reduktionszeit ist bei vitalen Knollen bedeutend kürzer als bei abbaukranken Knollen“.

Wenn man annehmen könnte, daß die Kartoffeln hinreichende Mengen eines Wasserstoffdonators enthalten würden, so daß man die Reduktionskapazität im Rahmen des Versuches als genügend ansprechen könnte, dann ließe sich das, was oben als Reduktionsvermögen bezeichnet wurde, als Dehydrasewirkung beschreiben. Es könnte dann angenommen werden, daß der Indikator (Methylenblau bzw. Guajakblau) einem überschüssig konzentrierten Wasserstoffdonator gegenüber die Rolle des überschüssig

konzentrierten Wasserstofffakzessors gehabt hätte, und daß eventuelle Unterschiede der Reaktionsgeschwindigkeit von Unterschieden in der Aktivität der Dehydrasen herrührten. Dieses ist vorläufig zwar als wahrscheinlich anzunehmen, aber nicht zu belegen, so daß die zitierten Arbeiten eigentlich in eine Reihe einzuordnen wären, in der nur von Reduktionswirkungen gesprochen wird. Eine ähnliche Bedeutung haben die Feststellungen von Marx und Merkenschlager (12), daß Trockenpulver von abbaukranken und gesunden Knollen in Lösungen von Natriumselenit und Kaliumpermanganat diese Körper unterschiedlich reduzieren. Aber auch bei diesen Untersuchungen gab der unterschiedliche Zeitverlauf der Reduktionsvorgänge einen Hinweis auf verschiedene katalytische Eigenschaften des Trockenpulvers: „Die Reaktion begann stets rascher und deutlicher bei der gesunden Probe, wurde aber bald gehemmt und ganz angehalten, während die Reduktion bei den abbauverdächtigen Proben im Endstadium mehr reduziertes Selen aufwies. Wir erprobten diese Überkreuzung an Kaliumpermanganat, die Reduktion setzte nach wenigen Stunden bei den gesunden Proben ein, blieb bei einem Zwischenton stehen, die Entfärbung und restlose Bildung von Braunstein erfolgte in deutlich verstärktem Maße bei den abbauverdächtigen Proben.“

Im Jahre 1930 fand Rusinow (23) eine eigenartige diagnostische Reaktion. Sie stimmt im Prinzip mit der Manoiloffschen Geschlechtsreaktion überein. Dabei bewirkt das Filtrat eines Extraktes von Organteilen die Umfärbung eines im Reaktionsmechanismus notwendigen Indikators, die bei der Verwendung von Organteilen kräuselkranker Pflanzen schneller vorstatten geht als bei der Verwendung von Organteilen gesunder Pflanzen.

Was in dieser Reaktion der differenzierende Faktor ist, muß vorläufig noch im Unklaren bleiben. Rusinow vermutete einen Unterschied in der Oxydasenwirkung und fand in daraufhin angestellten Versuchen die Unterschiede in den Oxydasen- und Peroxydasenwirkungen, über die wir oben schon berichtet haben.

Die Rusinowsche Reaktion ist ein Problem, das der Lösung wert wäre und in der Abbauforschung vielleicht wichtige Aufschlüsse geben könnte. Wenn wir hier das Problem theoretisch behandeln wollten, dann müßten wir die ganze Problematik der Manoiloffschen Reaktion aufrollen, was vorläufig zu keinem praktischen Erfolg führen würde. Rusinow (23) schrieb selbst über die praktische Bedeutung seiner Entdeckung: „Die Reaktion mit Methylenblau ist zu diagnostischen Zwecken der Bestimmung von Anzeichen von Degenerationskrankheiten der Kartoffelstaude sowie zur Unterscheidung gesunder von kranken Knollen wenig geeignet, da die verschiedenen in die Lösung eintretenden aus großen Partikeln bestehenden Stoffe auf den Gang der Reaktion von bedeutendem Einfluß sind.“

Die Beziehungen zwischen den Werten der Redoxpotentiale von Gewebebreiaufschlammungen und den Abbauzuständen der Knollen sind von Wartenberg und Hey (27) an einem großen und herkunftsmäßig vielseitigen Material festgestellt worden, sodaß sie als sicheres Ergebnis angenommen werden können. Es ist aber bisher nichts gefunden worden, was die Ursachen dieser Beziehung erklären könnte. Keinesfalls kann angenommen werden, daß die Potentialdifferenzen auf Unterschiede in der Sauerstoffaktivierung zurückzuführen seien.

Das Maß der Oxydasetätigkeit ist ein Wert der Geschwindigkeit eines kinetischen Energieumsatzes. Dagegen ist das Redoxpotential das Maß des Gleichgewichtes eines stationären reversiblen Energieumsatzes. Beziehungen zwischen der Oxydaseaktivität und dem Redoxpotential können dadurch in Erscheinung treten, daß dem Oxydationsmittel unter den Bedingungen eines negativeren Redoxpotentiales größere Reduktionskräfte gegenüberstehen, welche die Oxydase reaktivieren, die durch die Oxydationskraft eines reversiblen Produktes inaktiviert würde. Die umgekehrte Beziehung, die Abhängigkeit des Redoxpotentiales von der Oxydaseaktivität, wäre nur als Folge der Versuchstechnik möglich. Wenn man zum Erreichen des anaeroben Zustandes, der zur Messung eines Redoxpotentiales erforderlich ist, den Sauerstoff mit einem indifferenten Gas austreiben muß und inzwischen mit Hilfe der Oxydase reversible Oxydationsprodukte gebildet werden, die sich nicht in irgendwelche irreversible Oxydationsprodukte umwandeln oder zur Bildung solcher Körper verbraucht werden (Pigmentbildung, Atmung), dann könnte unter gleichen Vorbedingungen und unter gleichen Bedingungen der Versuchstechnik das Redoxpotential von der Oxydasetätigkeit abhängig sein. Bei der Messung des Redoxpotentiales im Gewebebrei der Kartoffel sind solche Verhältnisse nicht gegeben. Dort kommen die anaeroben Bedingungen dadurch selbsttätig zustande, daß die Oxydationskraft des Sauerstoffes zum Teil auf dem Wege über reversible Oxydationsprodukte (Prämelanin) in einem inaktiven Körper (Melanin) und zum Teil auf dem Wege über reversible Oxydationsprodukte in der anaeroben Redoxkette verschwindet. Der Wert des Redoxpotentiales ist aber von den Geschwindigkeiten dieser Vorgänge völlig unabhängig, obwohl diese Vorgänge ihrerseits ganz von der Oxydaseaktivität abhängig sind. (Wartenberg und Hey.)

Auch die Konzentrationsverhältnisse derjenigen Stoffe, welche als bekannte Komponenten reversibler Redoxsysteme an einer anaeroben Redoxkette beteiligt sein können (z. B. die Sulfhydratkörper), verursachen nicht die Potentialdifferenzen.

Die reversiblen Redoxsysteme stehen ja als „Zwischenkatalysatoren“ zwischen den Quellen der Oxydationskraft und der Reduktionskraft des Gesamtsystems, und das potentialbestimmende Massenverhältnis ihrer Oxydations- und Reduktionsphasen wird von der Leistung dieser Quellen beherrscht.

Pfankuch (19) betonte, daß mit allen bisher bekannt gewordenen Symptomen veränderter Stoffwechselaktivität nicht Ursachen, sondern Folgen eines Zustandes erfaßt werden konnten, der durch die Veränderung der Oxydoreduktion ausgedrückt wird. Wie eine Abbauursache diesen Zustand hervorruft, bleibt vorläufig im Dunkeln, und der Weg in das Unbekannte kann nur stückweise vorgetrieben werden. Wir hatten uns einen Aufschluß der Dehydrasewirkungen abbaukranker und gesunder Kartoffeln zur Aufgabe gestellt.

### B. Material.

Das Kartoffelknollenmaterial wurde von der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem aus den Beständen des Laboratoriums für Botanik zur Verfügung gestellt. Es eignete sich besonders gut zu vergleichenden Untersuchungen, weil es nicht allein bezüglich der Sortenechtheit, sondern auch bezüglich seines Pflanzgutwertes bekannt war. Wir konnten also mit Sicherheit Material verarbeiten, von dem wir wußten, ob es krank oder gesund war. Außerdem wurde das Material in Vegetationsversuchen beobachtet, bonitiert und zum größten Teil im Laboratorium mit dem schon erwähnten Verfahren nach Wartenberg und Hey auf seinen Gesundheitszustand geprüft. Wir sind deshalb auch in der Lage, unsere Ergebnisse nicht allein mit den Ergebnissen eines anderen Verfahrens, sondern auch mit den natürlichen Vegetationsleistungen der Knollen zu vergleichen.

### C. Methode.

Im Gewebebrei oder Preßsaft der Kartoffelknolle entsteht bekanntlich aus dem Tyrosin unter Verbrauch von Sauerstoff über eine Reihe von Oxydationsstufen das Melanin (20, 21). Es ist ferner bekannt, daß ein aktives Prämelanin dieser Reihe, der rote Körper, vom Preßsaft wieder selbstdämmig zu seinem Leukokörper reduziert wird, wenn man die Lösung von der Luft abschließt. Der Vorgang ist eine Hydrierung des roten Körpers. Wenn man diese natürliche Indikation eines Oxydoreduktionsprozesses, eines Hydrierungs- bzw. Dehydrierungsvorganges, der ohne Zweifel fermentativ geleitet wird, als Maßstab einer Dehydrasewirkung der Kartoffel gebrauchen könnte, dann wäre eine Reaktion mit substrateigenen Faktoren gegeben. Der Teil des Tyrosin-Tyrosinase-Melaninkomplexes, mit dem der rote Körper entsteht, ist aber in seinen Faktoren und Wirkungsgrößen unregelmäßig, und die Unregelmäßigkeit ist unabhängig vom Abbau, so daß vergleichbare Versuchsbedingungen niemals gegeben sind. Andererseits ist aber mit der selbstdämmigen Reduktion des roten Körpers der Beweis gegeben, daß ein oxydables Substrat, ein Wasserstoffdonator, vorliegt, über dessen Kapazität damit aber noch nichts ausgesagt ist.

Von den Dehydrasen der Kartoffel ist die Aldehyddehydrase bearbeitet worden (Bernheim, 2, Michlin und Severin, 15). Nach Michlin und Severin (vgl. auch Oppenheimer, 16, S. 499) scheint das nitratreduzierende Ferment akzeptorspezifisch zu sein, wogegen es nach Bernheim zwar donatorspezifisch sein soll, aber auch Methylenblau und Chinon reduziert. In Anlehnung an die Bernheimschen Befunde richteten wir unsere Methode in der Art der Schadingerschen Reaktion ein.

Als Wasserstoffakzeptor und Indikator wählten wir das Methylenblau und als Wasserstoffdonator den Azetaldehyd.

Die Entfärbung des Methylenblaues war nicht an einem Vergleichsobjekt mit konstanter Farbtiefe zu messen, weil die Preßsätze verschiedener Kartoffeln verschiedene Eigenfarben hatten und jedes Farblösungs-Preßsaftgemisch eine Mischfarbe mit eigenem Farbton

abgab. Wir mußten darum für jedes Untersuchungsobjekt eine Kontrolle herstellen, die den entsprechenden Ton des Methylenblau-Eigenfarbgemisches hatte.

Es wurden deshalb zwei verschiedene konzentrierte Methylenblaulösungen hergestellt.

I. 63,9 mg Methylenblau in 1 Liter Phosphatpufferlösung mit pH 8,04<sup>1)</sup>.

II. 32,0 mg Methylenblau in 1 Liter Phosphatpufferlösung mit pH 5,28<sup>1)</sup>.

Die Mischung des Preßsaftes mit der sauren Farbstofflösung II gab einen Farbton und eine Farbtiefe, die sich bei der sauren Reaktion des Mediums nicht oder, wie sich später herausstellte, nur langsam änderte; dagegen änderte sich die Farbe der Mischung des Preßsaftes mit der alkalischen Farbstofflösung I verhältnismäßig schnell und erreichte nach gewisser Zeit den Zustand des oben zuerst beschriebenen Gemisches. Die Zeit, welche ein Preßsaft in den beiden Farblösungen vom Ansetzen bis zur Farbgleichheit verbrauchte, war für diesen individuell, bei verschiedenen Preßsäften verschieden und wurde als Maß der Fermentwirkung angenommen.

Der Arbeitsvorgang war folgendermaßen:

Zur Gewinnung des Kartoffelpreßsaftes sind die Kartoffeln geschält, mit destilliertem Wasser gewaschen und auf einer Glasreihe zu Brei zerrieben worden. Der Brei wurde dann in ein Preßtuch eingewickelt und in einer kleinen hölzernen Saftpresse ausgepreßt. Den in dieser Art gewonnenen Saft füllten wir in Reagenzgläser, die mit Gummistopfen verschlossen wurden.

Bei der weiteren Verarbeitung sind in einem zweiten Reagenzglas zu 5 ccm dieses Saftes 3 ccm der alkalischen Methylenblaulösung und 2 ccm 0,5%ige Azetaldehydlösung zugesetzt worden. In gleicher Weise brachten wir in einem dritten Reagenzglas den Saft mit der sauren Methylenblaulösung zusammen. Alle Handreichungen des Abmessens und Mischens mußten möglichst schnell vonstatten gehen. Durch den fertigen Inhalt der Reagenzgläser ließen wir dann noch einige Zeit Stickstoffgas strömen, eine Maßnahme, die den Luftsauerstoff aus der Lösung austreiben sollte. Danach wurden die fertigen Lösungen in kleinere Gläser gefüllt und diese mit Gummistopfen (später mit durchbohrten Glasschliffstopfen) luftblasenfrei verschlossen.

Obwohl nicht anzunehmen ist, daß die Herrichtung eines Vergleichspaares von Gläsern immer die gleiche Zeit in Anspruch nimmt, so ist es doch durch Übung gelungen, annähernd gleiche Zeiten einzuhalten.

Der Zeitpunkt des Verschließens der kleinen Gläser war der Anfang, der Start, des Vergleiches. Er wurde notiert, und dann wurde gewartet, bis die alkalische und die saure Methylenblaulösung gleiche Färbungen zeigten. Dieser Zeitpunkt war der Abschluß des Vergleiches.

#### D. Versuche.

In der oben beschriebenen Weise wurden die Versuche angestellt, deren Ergebnisse hier mitgeteilt werden.

Zunächst soll einmal an ein paar Vergleichen gezeigt werden, daß mit dieser Methode ein Unterschied zwischen gesunden und abbaukranken Kartoffeln festgestellt werden kann.

Die Versuche, welche in der Tabelle 1 gezeigt werden, sind ohne Absicht aus der Reihe der Versuche zufällig gewählt worden. Es zeigt sich zwar ein ziemlich großes Spiel der absoluten Werte innerhalb der Vitalherkunftsreihe und auch innerhalb der Abbauherkunftsreihe, aber bei allen Sorten sind der Abbau und der Gesundheitszustand der beiden Herkünfte in gut unterscheidbaren Zahlenwerten der Entfärbungszeiten ausgedrückt.

<sup>1)</sup> Sörensen's Phosphatgemisch — vgl. Clark, The determination of hydrogen-ions, Baltimore 1923. S. 109 und 114.

Tabelle 1.

Sorte	Entfärbungszeiten in Minuten			
	Vitalherkunft		Abbauherkunft	
	Zahl der Knollen	Mittlere Ent- färbungszeit	Zahl der Knollen	Mittlere Ent- färbungszeit
Odenwälder Blaue . . . . .	10	30,00	10	14,00
Magdeburger Blaue . . . . .	25	87,20	26	20,15
Erstling . . . . .	10	114,40	10	32,40
Parnassia . . . . .	17	51,21	16	32,50

Dagegen kann man einwenden: es handle sich hier um Zufallsergebnisse. Man kann sich ja vorstellen, daß irgendein Ereignis herkunftsbedingt eintreten oder irgendein Vorgang in einer herkunftsbedingten Art ablaufen kann, und daß ein gefundener Unterschied auch zufällig mit Vitalität und Abbau des Materials zusammentreffen kann, aber nicht immer zusammenzutreffen braucht.

Diesem Einwand können wir mit folgender Beweisführung begegnen. Wir berechneten aus einer Reihe von Versuchen den Mittelwert der Entfärbungszeiten aller Knollen, die uns als gesund bekannt waren, und berechneten ebenso den Mittelwert aller Knollen, die uns als abgebaut bekannt waren. Dabei wählten wir die Knollen aus verschiedenen Abbau- und Vitalherkünften. Nach der Tabelle 1 war zu erwarten, daß es sortentypische Größenklassen der Entfärbungszeiten gibt, in denen die individuellen Entfärbungszeiten der Vertreter einer Sorte variieren. Weiter unten wird noch ausgeführt, daß wahrscheinlich der Zeitpunkt der Versuchsanstellung im jahreszeitlichen Verlauf der Knollenwinterruhe und daß unvermeidliche Schwankungen der subjektiven Eigenschaften des Versuchsanstellers die absoluten Werte der Entfärbungszeiten beeinflussen. Um bei unseren Mittelwertberechnungen von diesen Fehlern unabhängig zu sein, nahmen wir nur solche Knollen in den Vergleich, die im anderen Herkunftstyp (Vital- oder Abbauherkunft) einen sortengleichen Partner hatten, dessen Entfärbungszeit am gleichen Zeitpunkt und unter gleichen methodischen und subjektiven Versuchsbedingungen festgestellt worden war. Wenn unter diesen Bedingungen der Mittelwertsberechnung die Vertreter bekannter Vitalherkünfte einen anderen Mittelwert haben als die

Tabelle 2.

	Gesamtzahl der Knollen der Herkunfts- typen	Mittelwert (Mittlere Entfärbungs- zeiten in Minuten)	Mittlerer Fehler des Mittelwertes	Standard- abweichung
Vitalherkünfte . . . . .	140	53,54	± 3,21	± 37,97
Abbauherkünfte . . . . .	140	25,88	± 1,92	± 22,67

Laufende Nummer der Tabelle	Name der Kartoffelsorte	Bezeichnung der Kartoffelherkunft	Pflanzgutwert nach Warten- berg-Hey in Prozenten		Prozent-Anteil der kranken Pflanzen im Feldbestand 1934	Methylen- Datum des Versuches
			krank	kritisch		
1	2	3	4	5	6	7
1	Odenwälder Blaue	Stade II	8	35	8	13. Oktober 1933
2	" "	Stade II	8	35	8	9. November 1933
3	" "	Stade II	8	35	8	1. März 1934
4	" "	Mechow-Dahlem	82	14	64	13. Oktober 1933
5	" "	Mechow-Dahlem	82	14	64	1. März 1934
6	" "	Aschersleben-Dahlem	88	8	84	9. November 1933
7	" "	Dahlem III	94	6	100	9. November 1933
8	Magdeburger Blaue	Mechow II	— <sup>1)</sup>	—	45	17. Oktober 1933
9	" "	Mechow II	—	—	45	9. März 1934
10	" "	Dahlem II	—	—	100	17. Oktober 1933
11	" "	Dahlem II	—	—	100	9. März 1934
12	Erstling	Ebstorf P	2	11	2	17. November 1933
13	"	Ebstorf P	2	11	2	20. November 1933
14	"	Tapiau	6	9	3	18. Oktober 1933
15	"	Dahlem II	94	6	100	18. Oktober 1933
16	Parnassia	Mechow II	24	29	26	25. Oktober 1933
17	"	Mechow II	24	29	26	27. Oktober 1933
18	"	Aschersleben-Dahlem	48	38	92	25. Oktober 1933
19	"	Aschersleben-Dahlem	48	38	92	27. Oktober 1933
20	"	Stade II	29	36	14	16.—20. März 1934
21	"	Dahlem II	76	22	100	16.—20. März 1934
22	Industrie	Mechow II	11	37	14	31. Oktober 1933
23	"	Aschersleben-Dahlem	89	11	78	2. November 1933
24	Direktor Johanssen	Mechow II	5	25	11	7. November 1933
25	" "	Mechow II	5	25	11	8. November 1933
26	" "	Mechow-Dahlem	36	47	60	8. November 1933
27	" "	Aschersleben-Dahlem	44	48	92	7. November 1933
28	" "	Aschersleben-Dahlem	44	48	92	8. November 1933
29	" "	Dahlem II	75	25	93	8. November 1933
30	" "	Dahlem V	—	—	100	8. November 1933

<sup>1)</sup> = nicht festgestellt.

## blaureduktion

Mittlere Entfärbungszeit der Reihe	Entfärbungszeiten der einzelnen Knollen in Minuten											
	8	9										
30,—	25,	15,	40,	30,	30,	30,	35,	35,	25,	35.		
113,33	113,	114,	101,	110,	144,	108.						
24,44	36,	43,	22,	23,	18,	17,	19,	21,	27,	22,	31,	28,
	21,	35,	12,	17.								25,
14,—	15,	10,	15,	15,	15,	15,	10,	15,	15,	15,		
11,6	15,	12,	5,	17,	15,	11,	12,	14,	12,	13,	10,	11,
	11,	10,	7,	8.								14,
44,60	45,	41,	43,	50,	44.							
64,30	64,	54,	55,	58,	53,	68,	67,	65,	95,	64.		
87,2	50,	50,	80,	90,	75,	75,	90,	70,	60,	100,	70,	50,
	45,	45,	145,	145,	105,	145,	75,	115,	140,	140,	95,	45.
42,8	50,	32,	9,	7,	36,	13,	65,	34,	36,	53,	49,	14,
	105,	16,	60,	72.								77,
20,15	50,	15,	10,	10,	15,	15,	15,	15,	17,	70,	70,	10,
	10,	5,	10,	10,	10,	71,	10,	10,	15,	8,	8,	15.
12,53	11,	16,	30,	31,	13,	11,	10,	13,	10,	12,	8,	11,
	6,	12,	6,	6.								5,
145,42	139,	130,	149,	120,	174,	140,	166.					
123,41	85,	120,	84,	135,	74,	92,	150,	180,	146,	210,	85,	120.
114,40	112,	112,	30,	105,	135,	145,	115,	145,	90,	155.		
32,40	12,	17,	30,	30,	20,	145,	25,	10,	25,	10.		
42,87	40,	70,	40,	50,	23,	35,	50,	35.				
40,75	10,	30,	22,	50,	40,	35,	55,	60,	45,	40,	55,	40,
	55,	40,	40,	50,	50,	13,	45.					
27,25	20,	45,	30,	10,	13,	25,	50,	25.				
43,76	33,	8,	63,	52,	50,	48,	48,	46,	65,	63,	61,	50,
	35,	35,	37,	13.								37,
51,21	80,	41,	77,	50,	80,	64,	10,	37,	96,	58,	38,	71,
	24,	36,	46.									84,
32,50	49,	30,	12,	34,	28,	35,	31,	30,	55,	36,	40,	29,
	10,	9,	7.									85,
55,60	45,	35,	70,	40,	60,	40,	80,	65,	100,	65,	70,	40,
	80,	55,	90,	15,	25,	40,	35,	75,	20,	50,	75,	45,
71,28	60,	40,	40,	30,	40,	112,	130,	50,	45,	70,	50,	95,
	80,	120,	80,	80,	70,	70,	85,	70,	65,	70,	65,	95,
90,55	114,	104,	77,	70,	100,	64,	106,	105,	75.			
98,60	90,	108,	95,	85,	115.							
99,17	105,	105,	75,	100,	100,	110.						
60,07	50,	64,	76,	50,	70,	80,	67,	65,	50,	35.		
45,—	55,	50,	35,	40,	45.							
134,—	40,	120,	170,	165,	175.							
84,—	20,	15,	180,	120,	135.							

Vertreter bekannter Abbauherkünfte, dann darf die Beziehung der Entfärbungszeit zum Vital- bzw. Abbauzustand der Knolle als gesichert gelten.

Wir stellen fest: Unter den besprochenen Versuchsbedingungen bewirken Preßäfte abbaukranker Kartoffelknollen schnellere Methylenblauentfärbungen als Preßäfte gesunder Kartoffelknollen.

Ob es sich hierbei tatsächlich um Unterschiede in den Dehydrasewirkungen gesunder und abbaukranker Knollen und vor allen Dingen um Unterschiede in der Wirkung der Aldehyddehydrase handelt, soll erst weiter unten besprochen werden. Hier wollen wir erst einmal der Frage nachgehen, ob sich auf diesen Grundlagen eine Knollendiagnose des Abbaues errichten läßt. Dies kann an Hand der Tabelle 3 besprochen werden.

Die Tabelle 3 enthält in der zweiten Spalte die Namen der Kartoffelsorten, die im Versuch waren, und in der dritten Spalte die Namen der Orte, aus denen die Herkünfte bezogen waren. Sind in der dritten Spalte zwei Namen angeführt, dann bezeichnet der an zweiter Stelle stehende den letzten Anbauort und der vordere Name den Anbauort des Jahres zuvor. Ein Ortsname mit nachfolgender römischer Ziffer sagt aus, daß das Material der Zahl entsprechend mehrjährig an diesem Orte angebaut war.

Die Spalten 4 und 5 enthalten das von Wartenberg und Hey auf Grund ihrer elektrometrischen Methode vorausgesagte Urteil des Herkunftswertes. Es ist ausgedrückt in den Prozentanteilen der kranken Stauden, die im Nachbau zu erwarten waren. Daneben ist ein Prozentsatz der kritischen Fälle angegeben; das sind Knollen, bei denen das scharfe Urteil unsicher war. In der Praxis hat sich die Erfahrung herausgestellt, daß ein um so größerer Teil des Prozentsatzes der kritischen Fälle zu den sicher als krank beurteilten gerechnet werden muß, je größer der Prozentsatz der mit Sicherheit als krank beurteilten Knollen an sich ist.

In der sechsten Spalte sind die Prozentanteile der kranken Pflanzen im Feldbestand, der aus denselben Herkünften nachgebaut worden war, und in den Spalten 7, 8 und 9 sind schließlich unsere Versuche zu finden.

Vergleicht man unter Berücksichtigung gleichzeitiger Versuchsanstellung und unter Berücksichtigung der Sortengleichheit die gefundenen Entfärbungszeiten, dann ist festzustellen, daß die Vertreter abgebauter Herkünfte immer geringere Werte aufweisen als ihre Partner aus gesunden Herkünften. Stellt man aber zwei Vergleiche einander gegenüber, die zwei Vertreter gleicher Sorten und Herkünfte enthalten, aber zu verschiedenen Zeiten angestellt worden sind, wie z. B. bei der Sorte Magdeburger Blaue die laufende Nummer 8 und 10 und die laufende Nummer 9 und 11, dann ist zu sagen, daß zwar das Verhältnis der Werte der abgebauten und der Werte der gesunden Herkunft ungefähr dasselbe geblieben ist, daß aber die absoluten Werte in einem ganz anderen Wert-

gebiet liegen. In dem Falle der Sorte Magdeburger Blaue liegt zwischen den einander gegenübergestellten Vergleichsversuchen ein Zeitraum von fünf Monaten. Daraus könnte man annehmen, daß die absoluten Werte der Entfärbungszeiten mit der Dauer der Winterlagerung einer Veränderung unterworfen sind, daß sie geringer werden, daß aber das Verhältnis zwischen abbaukranken und gesunden Knollen erhalten bleibt. Ohne den Nachweis führen zu können, müssen wir sagen, daß wir bei unseren Untersuchungen den Eindruck gewonnen haben, als ob es so wäre. Dem Nachweis stehen aber Schwierigkeiten im Wege, die an Hand anderer Beispiele der Tabelle 3 zu zeigen sind.

Unter den Nummern 1, 2 und 3 sind drei verschiedene Versuche mit der Herkunft Stade II der Sorte Odenwälder Blaue aufgeführt. Die drei Versuche sind Mitte Oktober, Anfang November und Anfang März desselben Winterhalbjahres angestellt worden. Es zeigt sich, daß die Größenklasse der absoluten Werte des Oktoberversuches derjenigen des Märzversuches näher liegt als der Größenklasse des Novemberversuches. Die Vergleiche laufende Nummer 1 und 4 und laufende Nummer 3 und 5 sind sich in den absoluten Werten ähnlich, wogegen die Vergleiche der laufenden Nummer 2 und 6 und laufende Nummer 2 und 7 absolute Werte aufzuweisen haben, die in dem Unterschied zwischen krank und gesund auch ein ähnliches Verhältnis der Werte ergeben, aber in eine ganz andere Größenordnung fallen.

Die Veränderung der absoluten Werte, die vielleicht im Laufe der Winterlagerung möglich ist, wird demnach von einer anderen Fehlerquelle weit überdeckt. Man kann auch ohne nähere Kenntnis der Dinge urteilen, daß diese Fehlerquelle weniger vom Objekt als von der Methodik verursacht zu sein scheint. Der Fehler kann sich so weit auswirken, daß das Verhältnis der Entfärbungszeiten einer ziemlich gesunden und einer sehr kranken Herkunft umgekehrt zu finden ist, wenn die beiden Herkünfte, wie z. B. laufende Nummer 22 und 23 der Tabelle 3, nicht gleichzeitig, sondern in einem Abstand von zwei Tagen in den Versuch genommen werden.

### E. Fehlerquellen des Objektes.

Wir werden die methodischen Schwierigkeiten unten noch ausführlich besprechen und hier zunächst erst Fehlerquellen anführen, die im Objekt begründet sind. In der Tabelle 3 sind unter den laufenden Nummern 24 bis 30 Versuche mit Knollen der Sorte Direktor Johanssen aufgereiht. Die Vergleiche laufende Nummer 24 und 27 und laufende Nummer 25, 26 und 28 zeigen, daß auch diese Sorte nicht aus dem Rahmen des bisher Besprochenen fällt. Auch bei ihr verursachen die abgebauten Herkünfte geringere Werte der Entfärbungszeiten als die gesunden. Stellt man aber den Vergleich mit den laufenden Nummern 25,

29 und 30 an, dann zeigt sich, daß Vertreter stark abgebauter Herkünfte trotz der Sortengleichheit und trotz gleichzeitigen Anstellens des Versuches zum Teil viel längere Entfärbungszeiten geben können als Vertreter gesunder Herkünfte.

Solche Fälle würden, obgleich sie theoretisch sehr interessant sind, kein Hinderungsgrund für die diagnostische Verwertung der Methode sein. Das Material der lfd. Nr. 29 und 30 waren Knollen, die niemals in die praktische Prüfung kommen würden. Es ist dies extrem krankes Material, welches das Laboratorium für Botanik der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem in kostspieligen Anbauversuchen pflanzt und erntet, um in alle Untersuchungen extremes Material einbeziehen zu können<sup>1)</sup>. Solches extrem krankes Knollenmaterial, das das Wertverhältnis der Methylenblauentfärbung umkehrt, ist schon wenige Zeit nach der Ernte äußerlich zu erkennen. Gesunde Knollen verlieren im Winterlager Wasser und

Tabelle 4.  
Unterschied der Entfärbungszeiten der Preßsäfte  
warmgelagerter und kühlgelagerter Knollen gleicher Sorte und gleicher Herkünfte.  
Sorte: Industrie. Herkünfte: Schlawe, Aschersleben-Dahlem, Dahlem.

Art der Lagerung	Anzahl der Knollen	Mittelwert der Entfärbungszeiten	Mittlerer Fehler des Mittelwertes	Standardabweichung
Warm gelagert . . . . .	15	18,07	± 1,48	± 5,72
Kühl gelagert . . . . .	15	5,00	± 0,24	± 1,89

Das Material ist in gleichmäßiger Auswahl aus gleichen Herkünften einer Sorte entnommen worden. Die Knollen lagerten gemeinsam im Kartoffelkeller, und die als „warm gelagert“ bezeichneten sind etwa vier Wochen vor der Versuchsanstellung aus dem Keller geholt und bei Zimmertemperatur gelagert worden. Beim Versuch sind die Vergleichslösungen nicht mit halbkonzentrierter Methylenblaulösung gemischt worden. Letztere wurde in der weiter unten beschriebenen Weise im Kolorimeter mit einem besonderen Gefäß hinter die saure Preßsaftlösung geschaltet. Darauf sind die geringen absoluten Werte der Entfärbungszeiten zurückzuführen.

kommen mit der Zeit in einen Zustand geringerer Härte, der sich später bis zur Keimung wenig verändert, wogegen kranke Knollen viel länger den Zustand eines wassergesättigten harten Gewebes beibehalten. In einem fortgeschrittenen Grad des Krankheitsbefalles kann aber während des Winterlagers ein „Verfall“ einsetzen, bei dem die Knollen auch ohne Keimung sehr viel Wasser verlieren und „latschig“, gummiartig weich werden. Bei dem extrem kranken Knollenmaterial kann der „Verfall“ schon bald nach der Ernte einsetzen, so daß er leicht zu erkennen ist.

<sup>1)</sup> Solche Anbauversuche sind deshalb kostspielig, weil von 100 Pflanzknollen nur etwa 30 lebensfähige Sprosse entwickeln und auch diese niemals zu einem Gebilde heranwachsen, das man eine Staude nennen könnte. Man erntet dabei, wenn es gut geht, etwa 1 Prozent einer geringen Ernte.

Die Entfärbungszeiten sind auch von der Lagerungstemperatur der Knollen abhängig. Dadurch ist ebenfalls eine Fehlerquelle gegeben, die vom Objekt verursacht wird. Sie hat mit der oben angeführten insofern eine äußerliche Ähnlichkeit, als die Knollen bei relativ warmer Lagerung Wasser verlieren und einschrumpfen. Diesem äußerlichen Unterschied entspricht auch ein Unterschied in den Entfärbungszeiten, wie anhand der Tabelle 4 zu sehen ist.

#### F. Fehlerquellen der Methode.

Von einer Untersuchungsmethode, die als praktisches Diagnoseverfahren Verwendung finden soll, muß man verlangen, daß ihre Resultate von nichtreproduzierbaren äußeren Bedingungen und von subjektiven Eigenschaften des Untersuchenden unabhängig sind.

Die Methode muß so beschaffen sein, daß jede hinreichend vorgebildete Person unabhängig vom Ort und auch möglichst unabhängig von der Zeit der Untersuchung die Werte feststellen kann, mit denen anhand einer empirisch gewonnenen Wertordnung der Krankheitsbefall zu beurteilen ist.

Auf Grund der oben geschilderten Untersuchungsbefunde hatten wir eine Hoffnung, die Methylenblauentfärbung durch Ausschalten der methodischen Fehler zu einem Diagnoseverfahren ausbauen zu können. Mit dieser Absicht stellten wir Versuche an und fanden, daß

1. mehrere Personen nicht im Stande sind, die Entfärbung des Inhalts der Gläser gleichmäßig zu beurteilen, d. h., den Zeitpunkt der Farbgleichheit übereinstimmend festzustellen, und daß

2. ein und dieselbe Person die absoluten Werte der Entfärbungszeiten eines Versuches unter veränderten Beleuchtungsverhältnissen in einer ganz anderen Größenklasse findet, und daß

3. die untersuchende Person bei der Feststellung der Farbgleichheit umso größere Unsicherheit ihres Urteilsvermögens erlebt, je mehr Genauigkeit man von ihr verlangt. Es ist dabei nicht so, als ob man über kleine Differenzen strittig würde, sondern es häufen sich dadurch die Fälle, bei denen sich eine Farbgleichheit überhaupt nicht feststellen läßt. Achtet man weniger auf den Farbton als auf die Aufhellung des Glasinhaltes, dann kommt man leichter zu einer größeren Anzahl von Feststellungen, als wenn man auch noch den Farbton kritisch beurteilen würde. Andererseits ist gerade die Beurteilung der Aufhellung von den äußeren Beleuchtungsverhältnissen und von der Stimmung der Lichtempfindlichkeit der beurteilenden Person abhängig.

Um diese Fehler auszuschließen, gingen wir daran, den Zeitpunkt der Farbgleichheit im Dunkelraum bei konstanter Lichtquelle und durchfallendem Licht festzustellen, wobei wir zum Farbvergleich ein Kolorimeter mit Vergleichsprisma und Vergleichsokular verwendeten. Damit wurde aber

die Schwierigkeit nicht behoben, sondern nur vergrößert; denn es stellt sich heraus, daß zwar in vielen Fällen eine Farbähnlichkeit, aber nur in wenigen Fällen eine objektive Farbgleichheit zustande kommt. Ferner wurde festgestellt, daß die Vergleichslösung ( $\frac{1}{2}$  Methylenblau in saurer Pufferlösung + Kartoffelpreßsaft + Azetaldehydlösung) keine konstante Vergleichsfarbe hat, sondern sich mit der Zeit in derselben Richtung wie der Inhalt des anderen Glases verändert. Was mit der Messung der Entfärbungszeit festgestellt wird, ist also keine absolute Geschwindigkeit der Dehydrasewirkung bei optimalen Reaktionsbedingungen, sondern die Geschwindigkeit, mit der die Entfärbung des einen Glasinhaltes den durch die halbkonzentrierte Methylenblaulösung gegebenen Vorsprung der Entfärbung des anderen Glasinhaltes einholt. Wenn darin ein prinzipieller Fehler läge, dann könnte man ihn einfach dadurch ausschalten, daß man die Methylenblaulösung und die Preßsaftlösung für das Vergleichsglas nicht mischt, sondern im Kolorimeter in zwei Gläsern hintereinander schaltet und die Schichttiefendifferenz zwischen Vergleichs- und Testglas dadurch ausgleicht, daß man hinter das Testglas ein Glas mit Wasser schaltet. Entsprechende Versuche haben gezeigt, daß hierdurch, wie es zu erwarten war, die absoluten Werte der Entfärbungszeiten viel geringer werden. Die Unsicherheit des Farbvergleiches wurde aber nicht aufgehoben, sondern noch vergrößert. Weil der Farbvergleich bei kurzen Entfärbungszeiten an sich schon viel schwieriger ist als bei langen, bekommen durch diese methodischen Fehler die festzustellenden Werte eine so große Variation, daß oft kein Unterschied in den Mittelwerten der Entfärbungszeiten gesunder und kranker Herkünfte gefunden werden kann.

Es bleibt nun noch ein Weg, auf dem die Methylenblauentfärbung vielleicht für diagnostische Zwecke verwertet werden kann. Diesen Weg haben wir selbst noch nicht beschritten. Wir wollen aber seine Möglichkeiten erörtern.

Es steht die Frage offen, ob man die Störungen, welche beim Kolorimetrieren von den Eigenfarben des Preßsaftes hervorgerufen werden, durch Anwendung von Farbfiltern ausschalten und die Dehydrasewirkung nur mit einem Beobachten der Aufhellung des Methylenblaues verfolgen kann. Man wird dabei Unterschiede zwischen den Zeitwerten der Methylenblauentfärbung verschiedener Knollen finden können. Diese Unterschiede brauchen aber aus folgenden Gründen keine Beziehungen zu den Unterschieden der Krankheits- bzw. Gesundheitszustände der Knollen zu haben.

Aus dem, was bisher über die Fehlerquellen der Methode gesagt wurde, ist zu schließen, daß eine Beziehung zu dem Abbau bzw. Gesundheitszustand gefunden werden kann, wenn unter Berücksichtigung gleichmäßiger äußerer Bedingungen und gleichmäßiger subjektiver Eignungen des Beobachters auf die Aufhellung des Glasinhaltes geachtet und dabei die Beobachtung der Veränderung des Farbtones vernachlässigt oder, was

noch besser ist, ganz ausgeschaltet wird. Wäre die Eigenfärbung des Preßsaftes unveränderlich, dann müßte die Farbmischung durch die Entfärbung des Methylenblaus auch eine gleichmäßige Farbtönung erreichen. Da letzteres nicht der Fall ist, kann die Eigenfarbe auch nicht unveränderlich sein. Tatsächlich hat der Preßsaft durch die Anwesenheit der Prämelanine ein Pigment mit veränderlicher Färbung.

Der rote Körper und seine Leukostufe, die nach Friedheim (8) ein reversibles Redoxsystem bilden, haben dieselbe Färbungs- bzw. Entfärbungstendenz wie das Methylenblau. Beide sind in der Ophase Farbkörper und in der Redphase farblose Körper; beide sind auch in der Ophase Wasserstoffakzeptoren und in der Redphase Wasserstoffdonatoren. Ferner ist zu beachten, daß das Normalpotential des roten Körpers und seiner Leukostufe nur etwa 20 Millivolt über dem Normalpotential des Methylenblausystems liegt.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die beiden Redoxsysteme ein Gleichgewichtssystem bilden, sei es, daß der Ausgleich der Oxydations- und Reduktionskräfte durch direkte chemische Reaktion erfolgt<sup>1)</sup>, oder sei es, daß er durch eine Oxyreduktase vermittelt wird. Wenn dies der Fall wäre, dann hätte das Kolorimetrieren mit einem Blaufilter keinen Zweck, denn die Entfärbung des Methylenblaus würde ja bis zum Gleichgewichtspotential der beiden Redoxsysteme von Bedingungen verursacht, die mit dem Abbau nichts zu tun haben. Oben wurde schon einmal gesagt, daß derjenige Teil des Tyrosin-Tyrosinase-Melaninkomplexes, mit dem das rote Körper-Redoxsystem entsteht, vom Abbau völlig unabhängig ist. Ob im Gewebebrei oder Preßsaft einer Kartoffelknolle viel oder wenig Melanin gebildet wird, hängt von der Menge des zugeführten Sauerstoffes ab. Aber auch bei gleichmäßiger Sauerstoffzuführung ist die Menge des Melanins bei verschiedenen Knollen unterschiedlich, und diese Unterschiede decken sich nicht mit den Unterschieden der Gesundheitszustände.

Folgende Beobachtungen sprechen dafür, daß die beiden Redoxsysteme ein Gleichgewichtssystem bilden.

Läßt man einen Preßsaft einige Stunden unter Luftabschluß stehen, dann verschwindet allmählich die rote Farbe, die er durch den roten Körper, eine Zwischenstufe der Melaninbildung, angenommen hatte. Die Einzelheiten des Vorganges der Entfärbung sind bekannt. Nach Fried-

<sup>1)</sup> Die Oxydation der Leukostufe des roten Körpers durch Chinon wäre ein analoges Beispiel. Friedheim (8) hat gefunden, daß Chinon den Leukokörper zum roten Körper oxydiert. Es scheint dabei keine Mitwirkung eines Fermentes nötig zu sein, denn er beschrieb diesen Vorgang als Parallele zur Tyrosinasewirkung. Auch die Wirkung der anschließenden anaeroben Redoxkette ist bei dem Chinon-Prämelaninverhältnis beispielhaft gegeben; denn Wartenberg und Mitarbeiter (27) zeigten, daß geringe Chinhydronmengen, die keine allzugroße Beschwerung bedeuten, vom Gewebebrei der Kartoffel reduziert werden und daß ihre Oxydationskraft im Gewebebrei verschwindet, als ob dem Gewebebrei kein Chinhydron zugesetzt worden wäre.

heim (8) wird der rote Körper vom Cystein reduziert, und nach Pfankuch (17) kennen wir weitere Kettenglieder, die über die Sulfhydryl-systeme und die Oxydoreduktionen der Zucker-Phosphorsäureester zu einem irreversiblen Oxydationsprodukt führen. Der rote Körper wird also reduziert, und die Oxydationskräfte werden in einem kinetischen Gefälle über eine Kette reversibler Systeme, an deren Ende ein inaktives Oxydationsprodukt steht, irreversibel festgelegt.

Die Entfärbung des Preßsaftes ist demnach ein Beweis dafür, daß das Prämelanin vorhanden ist, und daß es nunmehr in der farblosen reduzierten Form vorliegt. Wenn man die Methylenblau-Pufferlösung nach dem Verschwinden der Rotfärbung des Preßsaftes mit diesem mischt, dann bildet sich allmählich, aber bevor die Gesamtaufhellung des Glasinhaltes wesentliche Fortschritte macht, ein Farbton, der vom Farbton des Methylenblauen abweicht. Man kann beobachten, daß die Farbänderung von einer Verdunkelung des Glasinhaltes begleitet wird. Setzt man die saure und die alkalische Pufferlösung mit gleichen Methylenblaukonzentrationen an, dann ist zu beobachten, daß das Preßsaftgemisch mit der alkalischen Lösung zunächst dunkler wird und schließlich wieder aufhellt. Auch die saure Lösung wird zunächst dunkler. Weil aber der ganze Vorgang in der sauren Lösung eine viel geringere Geschwindigkeit hat, treffen sich die Verdunkelungs- bzw. Aufhellungsgrade an einem Schnittpunkte, bei dem wegen der annähernd gleichen Farbtönung eine Farbgleichheit angenommen werden kann.

Es ist aber ohne nähere Untersuchungen nicht zu unterscheiden, ob das Entstehen des Farbtones, der vom Methylenblau abweicht, auf eine Oxydation des Prämelanins durch das Methylenblau zurückzuführen ist. Man muß dabei berücksichtigen, daß mit der Methylenblaulösung, die das reversible und autoxydable Redoxsystem in einem Redoxverhältnis enthält, welches dem  $O_2$ -Druck der Luft entspricht, gelöster Sauerstoff in das Lösungsgemisch gebracht wird, der auch durch die Tyrosinase eine Färbung des Prämelanins herbeiführen kann. Dieses kann geschehen, wenn die Tyrosinasreaktion ein schnellerer Vorgang als die eventuell vom Melaninsystem unabhängige Methylenblaureduktion ist. Im Fall eines umgekehrten Verhältnisses der Reaktionsgeschwindigkeiten wird der Sauerstoff mit der Oxydation der autoxydablen Leukostufe des Methylenblauen verbraucht, ehe der Sauerstoff durch Oxydation des Melaninkomplexes entsprechend verschwinden könnte. Gegen die Annahme, daß die Verdunkelung auf einen Effekt des Sauerstoff-Tyrosinase-Systems zurückzuführen sei, spricht die Aziditätsabhängigkeit der Tyrosinasewirkung. Bei unseren Beobachtungen war die Verdunkelung in den alkalisch verpufferten Preßsaft-Methylenblaulösungen schneller als in den sauer verpufferten. Nach Raper (21) hat aber die Tyrosinase ihr Reaktionsoptimum im sauren Gebiet.

## G. Ist die Methylenblauentfärbung eine Wirkung der Aldehyddehydrase?

Wir haben oben besprochen, daß eine Methylenblauentfärbung über das Melaninsystem und die daran anschließende anaerobe Redoxkette nicht ausgeschlossen ist.

Selbst dann, wenn wir dieses als unwahrscheinlich oder als einen bedeutungslosen Fehler ansehen könnten, wäre immer noch zu fragen, ob der Farbstoff Methylenblau im Presssaft der Knolle nicht noch durch andere Vorgänge und Stoffe entfärbt werden kann.

Nach Bernheim (2) scheint die Wirkung der Aldehyddehydrase der Kartoffel spezifisch zu sein, denn sie oxydiert nicht eine Reihe anderer Wasserstoffdonatoren, welche keine Aldehyde sind. Es ist andererseits als sicher anzunehmen, daß der Knollenpresssaft der Kartoffeln noch andere Dehydrasen enthält. Wenn er dazu noch genügende Mengen entsprechender Wasserstoffdonatoren enthalten würde, dann wäre mit Rücksicht darauf, daß das Methylenblau als Wasserstoffakzeptor unspezifisch ist, bei den Bedingungen unserer Methode nicht von einer Aldehyddehydrasenwirkung zu reden. Wir müssen deshalb die Frage stellen, ob der Zusatz des

Tabelle 5.  
Entfärbungszeiten mit und ohne Azetaldehyd.

Laufende Nummer	Sorte	Herkunft und Herkunfts-wert A. nach Wartenberg und Hey B. nach dem Feldversuch	Entfärbungszeiten in Minuten	
			mit Azetaldehyd	ohne Azetaldehyd
1	Odenwälder Blaue	Dahlem III A. 94 % krank, 6 % kritisch B. 100 % krank	64, 54, 55, 58, 53, 68, 67, 65, 95 Mittel 64,33	64, 67, 70, 119, 138, 75, 71, 106, 71 Mittel 86,77
2	Odenwälder Blaue	Aschersleben-Dahlem A. 88 % krank, 8 % kritisch B. 84 % krank	45, 41, 43, 50, 44 Mittel 44,60	50, 49, 48, 63, 62 Mittel 54,40
3	Odenwälder Blaue	Stade-Stade A. 8 % krank, 35 % kritisch B. 8 % krank	113, 104, 101, 110, 144, 108 Mittel 113,33	112, 90, 108, 114, 145, 134 Mittel 117,17
4	Erstling	Ebstorf P A. 2 % krank, 11 % kritisch B. 2 % krank	85, 120, 84, 135, 74, 92, 150, 180, 146, 210, 85, 120 Mittel 123,42	115, 115, 186, 180, 97, 112, 165, 220, 170, 260, 110, 185 Mittel 159,58
5	Erstling	Ebstorf P A. 2 % krank, 11 % kritisch B. 2 % krank	149, 149, 174, 174 Mittel 161,50 Gesamt-mittel 100,25	230, 230, 199, 199 Mittel 214,5 Gesamt-mittel 125,81

Azetaldehydes bei der Methylenblauentfärbung des Preßsaftes der Kartoffelknolle eine bedeutende Rolle spielt. Wir hatten die Methode nach den Bedingungen der Aldehyddehydrasewirkung eingerichtet und dem Azetaldehyd, bzw. seinem Hydrat, die Rolle des überschüssig konzentrierten Wasserstoffdonators zugesetzt. Die Ergebnisse der Versuche, welche in der Tabelle 5 dargestellt sind, zeigen, daß der Azetaldehyd lediglich einen Unterschied der Entfärbungszeiten verursacht. Bei dem Versuch wurde jeweils aus dem Preßsaft einer Knolle gleichzeitig ein Testglas mit und ein Testglas ohne Azetaldehyd angesetzt.

Der zugesetzte Azetaldehyd hat als Wasserstoffdonator also nur eine zusätzliche Wirkung. Er beschleunigt die Entfärbungs- bzw. Aufhellungszeiten. Wie weit preßsafteigene Aldehyde oxydiert werden und wie weit andere Dehydrasen und Wasserstoffdonatoren an der Aufhellung des Glasinhaltes beteiligt sind, kann selbstverständlich an Hand der vorliegenden Untersuchungen nicht erörtert werden. Wie dem auch sei, auch wenn wir annehmen könnten, es würde ein beträchtlicher Teil der Oxydationskraft des Methylenblaus auf dem Wege über das Melaninsystem und die anschließende Redoxkette inaktiviert, so wäre immer noch die Gesamterscheinung als eine komplexe Dehydrasewirkung anzusehen; denn auch die beteiligten reversibel oxydierbaren Körper des Melaninsystems werden durch Wasserstoffanlagerungen reduziert. Es muß also ein Wasserstoffdonator dehydriert werden. Es ist dabei gleichgültig, ob die Dehydrase zwischen den benachbart reagierenden Gliedern höheren Potentiales der Redoxkette, die uns bekannt sind, oder zwischen irgendwelchen unbekannten Kettengliedern tieferen Potentiales tätig ist. Man muß annehmen, daß irgendwo eine Dehydrase eingreift<sup>1)</sup>.

#### H. Ist der Unterschied in den Dehydrasewirkungen der Preßsätze gesunder und abbaukranker Knollen auf verschiedene Wasserstoffionenkonzentration der Medien zurückzuführen?

Die Frage nach den Aziditätsverhältnissen der Gewebebreie bzw. Preßsätze abbaukranker und gesunder Knollen, die zuletzt Wartenberg, Hey und Tahsin (27) (wo auch die frühere Literatur zu finden ist) be-

<sup>1)</sup> Friedheim (8) nannte den roten Körper und seine Redphase „ein natürliches, die Zellatmung katalysierendes Redoxsystem“. Michaelis (14) vertritt die Auffassung: „Der Katalysator muß ein reversibles Redoxsystem darstellen, welches von dem Oxydationsmittel spontan oxydiert und von dem Reduktionsmittel spontan reduziert werden kann“. In diesen beiden Äußerungen, die beide für sich kausalanalytisch berechtigte Schlußfolgerungen sind, liegt etwas Übereinstimmendes, was zum Irrtum führen kann.

Es kann sich die Auffassung bilden, die Redoxsysteme und die Fermente hätten identische Funktionen. Die ersten haben aber eine ganz andere Rolle als die letzteren. Sie sind Zwischenträger des Energiewechsels, „Zwischenkatalysatoren“ werden sie nach Oppenheimer genannt (16). Sie haben nicht die Eigenschaft, durch ihre „Gegenwart eine thermodynamisch mögliche, aber nicht, oder mit kleiner Geschwindigkeit, vor sich

handelt haben, hat im Rahmen der vorliegenden Abhandlung keine Bedeutung; denn wir haben bei unserer Methode die Preßsäfte mit Phosphatpuffern versetzt. Es ist aber andererseits zu fragen, ob die Eigenpufferungen der Preßsäfte verschieden sind, so daß die Verpufferung bei der relativ geringen Pufferkonzentration, die wir angewandt haben, zu verschiedenen Wasserstoff-Ionenkonzentrationen der Reaktionsmedien führen. Es ist theoretisch nicht ausgeschlossen, daß die Preßsäfte abbaukranker und gesunder Knollen keine Aziditätsunterschiede zu haben brächen, daß aber ihre Pufferungen unterschiedlich sind und daß dadurch die zugesetzten Phosphatpuffer einen künstlichen Aziditätsunterschied hervorrufen, der die Entfärbungs- bzw. Aufhellungsunterschiede verursachen könnte.

Zu dieser Frage können wir mit Hilfe der Untersuchungen, die Wartenberg (28) zur Aufklärung der Pufferungsverhältnisse von Preßsäften abbaukranker und gesunder Knollen unternommen hat, Stellung nehmen. Nach Wartenbergs Feststellungen ist es wahrscheinlich, daß die Preßsäfte abbaukranker Knollen stärker gepuffert sind als diejenigen der gesunden. Keinesfalls ist zu erwarten, daß das Pufferungsverhältnis umgekehrt ist.

Unter den Bedingungen unserer Methode bewirkte der saure Phosphatpuffer eine Reaktion des Puffersaftgemisches, die gegenüber derjenigen des Preßsaft-Wassergemisches durchschnittlich um 0,197 pH-Einheiten nach sauer verschoben war. Dabei zeigten die Puffer-Saftgemische gesunder Knollen eine durchschnittliche Verschiebung von 0,200 und diejenigen der kranken eine von 0,193 ph-Einheiten. Die Aziditätsdifferenzen der sauren Puffer-Saftgemische dürfen demnach als unbedeutend angenommen werden, zumal die festgestellten Wertunterschiede, ebenso wie die feststellbaren Aziditätsunterschiede unverpufferter Preßsäfte kranker und gesunder Knollen, noch innerhalb der Fehlergrenzen liegen, weshalb ihre Existenz durchaus nicht sichergestellt ist.

Anders ist es bei den Aziditätsverschiebungen, welche durch den alkalischen Puffer bewirkt werden. Hierbei zeigte sich eine durchschnittliche Änderung von 0,791 pH-Einheiten, wobei die Preßsäfte gesunder

---

gehende Reaktion“ zu beschleunigen. Im biologischen Prinzip sind sie nicht die Körper, welche das Geschehen regulieren und deren Funktionen von Außenbedingungen oder im Zusammenhang der Geschehnisse reguliert werden. Wenn sie die Schlüssel des Energiewechsels wären, dann würde der biologische Chemismus bis zum Ausgleich aller Potentialgefälle restlos ablaufen. Mit ihnen kann die Regulierung, die Steuerung, des Biochemismus nicht erklärt werden.

Im Gegensatz zu den bekannten Redoxsystemen sind die Fermente substratspezifisch und in ihrer Aktivität von der Adsorption an Kolloidoberflächen abhängig (vgl. Oppenheimer, 16, Erg.-Bd. I, 385 und 386). Im Spiel dieser Abhängigkeit funktioniert die Förderung und auch die biologisch notwendige Hemmung katalysierter Vorgänge.

Die Mitwirkung von Fermenten an den oben beschriebenen Vorgängen ist also unter allen Umständen anzunehmen.

Knollen mit einem Durchschnitt von 0,857 und diejenigen der kranken mit einem Durchschnitt von 0,719 ph-Einheiten vertreten waren. Auf dieser Seite ist also tatsächlich ein Aziditätsunterschied als ungewollter Effekt unserer Methode zu finden, und zwar in dem Sinne zu finden, daß die Puffer-Preßsaftgemische gesunder Knollen weniger sauer als diejenigen der kranken Knollen sind.

Über die Reaktionsabhängigkeit der Dehydrasenwirkungen ist folgendes bekannt. Nach Oppenheimer (16, S. 904) sollen diese Fermente anscheinend bei neutraler Reaktion die beste Wirkung haben. Clark stellte bei seinen Untersuchungen über die Schardingersche Reaktion fest (14, S. 211—212), daß die Wirkung der Aldehyddehydrase der Milch mit dem pH-Wert bis pH 7,00 steigt. Bernheim (2) fand bei der Nitrat-reduktion durch die Aldehyddehydrase der Kartoffel (gereinigtes Präparat) ein Optimum bei pH 5,5 (Wirkungsbereich: pH 3,0 bis pH 8,6). Dagegen soll die Methylenblauentfärbung auf den für das Schardinger-Enzym ungewöhnlich engen Reaktionsbereich von pH 7,3—7,8 beschränkt sein, was Michlin und Severin (15) zum Zweifel an der fermentativen Natur der Bernheimschen Methylenblauentfärbung veranlaßte.

Eine theoretische Auseinandersetzung über die Reaktionsabhängigkeit der Kartoffeldehydrasen hat hier keinen Zweck, weil erstens die Fermente ja bekanntlich in verschiedenen Medien verschiedene Reaktions-optima haben können, und weil wir zweitens nicht wissen, ob wir es in unserem Falle mit mehreren Dehydrasen zu tun haben, von denen bestenfalls etwas Ungenaues und Unbestimmtes über die Aldehyddehydrase bekannt wäre.

Wir konnten über die Reaktionsabhängigkeit der Methylenblauentfärbung bzw. Lösungsaufhellung unserer Versuche in folgender Weise einen Aufschluß gewinnen. Es wurde eine Reihe von Methylenblau-lösungen hergestellt, die durch unterschiedlichen Gehalt an HCl bzw. KOH eine Lösungsreihe mit abgestufter Azidität war. Dann wurden jeweils 5 ccm jeder Stufe mit 5 ccm eines Preßsaftes gemischt und die Entfärbungen dieser Aziditätsstufen vergleichsweise beobachtet. Die Wirkung, welche die Säure bzw. die Lauge auf die Azidität des Lösungs-Preßsaftgemisches hatte, war durch Titration an der Glaselektrode beobachtet worden.

Mit solchen Versuchen wurde festgestellt, daß die Entfärbungsgeschwindigkeit mit dem pH-Wert steigt.

Dieser Befund erregt zunächst einen Zweifel an der Annahme, daß der Vorgang, der mit unserer Methode beobachtet wurde, eine Fermentreaktion sei; denn deren Aziditätsabhängigkeit beschreibt gewöhnlich eine Optimumkurve. Man könnte annehmen, daß es sich um einen rein chemischen Reduktionsprozeß handle, und daß der Unterschied zwischen den Entfärbungszeiten der Preßsätze gesunder und kranker Knollen auf einen Unterschied in den Konzentrationen der Reduktionsmittel zurück-

zuführen sei. Selbst die Tatsache, daß auch die Preßsätze gesunder Knollen das Methylenblau auch in saurer Reaktion restlos entfärben können, woraus hervorgeht, daß die Reduktionskapazität die Menge des Oxydationsmittels restlos aufnehmen kann, würde einen solchen Einwand nicht entkräften. Es handelt sich ja hier um Geschwindigkeitsunterschiede. Demnach könnte nach dem Massenwirkungsgesetz auch eine Geschwindigkeitsdifferenz zum Ausdruck kommen, wenn der eine Reaktionspartner in beiden Fällen restlos reduziert wird und nur im nicht oxydierten Reduktionsmittel ein Massenunterschied bestehen würde.

Bei der Urteilsbildung zu dieser Frage muß man bedenken, daß die Optimumkurven der Fermentaktivität meistens mit Fermentpräparaten festgestellt worden sind und daß in unseren Preßsaft-Lösungsgemischen ganz andere Verhältnisse herrschen. Vor allen Dingen ist die Oberflächenänderung der Preßsaftkolloide zu berücksichtigen. An dem Trübungsunterschied ist zu erkennen, daß die Trübung mit zunehmender H-Ionenkonzentration steigt und die Dauer bis zur selbsttätigen Ausfällung der Kolloide geringer wird. Dagegen zeigt sich mit zunehmender OH-Ionenkonzentration zunächst eine schnellere Änderung in der Richtung solider Zerteilung der Kolloide, und erst nach langer Zeit, nachdem schon lange keine Methylenblaufärbung mehr sichtbar ist, beginnt bei den Preßsaft-Lösungsgemischen mit höchster OH-Ionenkonzentration eine geringe, anscheinend fraktionierte, Ausfällung. Dieses Ansteigen der Kolloidoberflächen muß ein Ansteigen der Fermentaktivität bewirken, das die Wirkung aller anderen Faktoren, die evtl. eine Optimumkurve verursachen könnten, weit überdeckt, so daß ein kontinuierlicher Anstieg der Reduktionsgeschwindigkeit die Fermentnatur des Vorganges nicht ausschließt.

Die Tatsache, daß die Entfärbungsgeschwindigkeit mit dem pH-Wert steigt, erlaubt die Schlußfolgerung, daß die Unterschiede in den Entfärbungszeiten der Preßsätze abbaukranker und gesunder Knollen nicht auf Aziditätsunterschiede zurückzuführen sind. Die tatsächlichen Aziditätsunterschiede müßten ja einen umgekehrten Sinn des Verhältnisses bewirken. Es muß vielmehr angenommen werden, daß der Unterschied von einem Faktor verursacht wird, dessen Wirkungsgröße die Wirkung des gegenteilig gerichteten Aziditätsunterschiedes weit überdeckt.

#### **J. Über die Reduktionswirkung des Preßsaftes ohne Verpufferung und ohne Aldehydzusatz.**

Aus den Versuchen zum Abschnitte G unserer Ausführungen ging hervor, daß der Aldehydzusatz nur eine zusätzliche Wirkung auf die Entfärbungsgeschwindigkeit hat. Im Abschnitt H zeigten wir, daß die Entfärbung nicht an einen bestimmten Aziditäts- bzw. Alkalitätsbereich ge-

bunden ist. Sie ist bei jedem versuchsüblichen pH-Wert möglich und hat nur mit steigender Hydroxyl-Ionenkonzentration eine Beschleunigung.

Demnach müßte es theoretisch möglich sein, auch ohne Verpufferung und ohne Aldehydzusatz einen Unterschied zwischen Entfärbungs- bzw. Aufhellungszeiten von Preßsäften, die mit Methylenblaulösung versetzt worden sind, zu finden.

In einzelnen Fällen ist es tatsächlich möglich. Dabei muß man allerdings auf einen Vergleich mit einer halbkonzentrierten Methylenblaulösung in saurer Verpufferung verzichten. Die gewöhnliche, in unserem Versuch angewandte, saure Verpufferung gibt einen zu geringen Unterschied in den pH-Werten, weil die Eigenpufferung in diesem Gebiet zu stark ist. Ein Vergleich wird dabei nicht erreicht. Und ein weit saureres Preßsaft-Methylenblaulösungsgemisch als Vergleich herzustellen, ist für den Versuch nicht förderlich. Bei den an sich langen Zeiträumen, welche die Entfärbung in dem Reaktionsbereich der Preßsaftazidität benötigt, bewirkt schon eine geringe Ansäuerung der Lösung eine Ausfällung der Kolloide. Bei solchen Versuchen, die immer mehrere Stunden dauerten, kam stets in den Vergleichsgläsern, ehe ein Farbvergleich möglich war, eine Ausfällung zustande.

Die einfache Frage, ob eine unverpufferte wässrige Methylenblaulösung vom Preßsaft kranker Knollen schneller entfärbt wird als vom Preßsaft gesunder Knollen, ist nicht leicht zu beantworten. Wenn man keine nähere Erfahrung mit den Dingen gemacht hat, sieht man in der Frage eine leichte Aufgabe. Aber gerade diese Aufgabe bietet die allergrößte Schwierigkeit. Die einfache Versuchsanordnung, zwei Preßsaft-Methylenblaulösungsgemische nebeneinander zu halten und ihre Entfärbungszeiten eindrucksgemäß festzustellen, führt zu Trugschlüssen. Erstens ist die Störung durch das Melaninsystem, die wir oben beschrieben haben, ohne geringste Andeutung einer Regelmäßigkeit in ihrer Wirkungsgröße für gesunde und kranke Herkünfte der Knollen und auch für verschiedene Knollen einer Herkunft rein zufällig. Und zweitens kommt als weitere Fehlerquelle hinzu, daß die Preßsaftazidität unregelmäßig ist.

Es besteht zwar die allgemeine Tendenz, daß die Preßsäfte von Abbauherkünften eine etwas weniger saure Reaktion aufweisen. Noch deutlicher ist die Beziehung in ein und derselben Herkunft. Dort geben abbaukranke Knollen mit ziemlicher Regelmäßigkeit Preßsäfte, deren Reaktion im Gegensatz zu den Preßsäften gesunder bzw. relativ gesunder Knollen etwas nach alkalisch verschoben ist. Die Reaktionsverschiebung geht aber nicht allgemein in ihrer Graduierung mit der Graduierung des Abbauzustandes parallel. Man kann mit Hilfe der Aziditätsdifferenzen in einer Herkunft, sofern die an sich schwierigen Bestimmungen der kleinen Differenzen mit der nötigen Sicherheit durchgeführt werden können, wahrscheinlich die kranken Knollen von den gesunden unterscheiden. Es ist aber nicht möglich, zwei Herkünfte auf einer Basis zu vergleichen.

Wartenberg, Hey und Tahsin (27) haben diese Frage eingehend behandelt und Beispiele angeführt, auf die wir hier verweisen müssen.

In unseren Arbeiten wirkten sich diese komplizierten Umstände dahin aus, daß je nach den gesunden Herkünften und je nach den Abbauherkünften, die wir in den Versuch nahmen, einmal der Preßsaft der gesunden saurer war als der der kranken und beim andern Mal das Verhältnis auch umgekehrt liegen konnte. Sonderbarerweise kommen im Bereich der Azidität des natürlichen Preßsaftes die Reaktionsdifferenzen bei der Methylenblauentfärbung zum Ausdruck. Im großen Durchschnitt stimmen die Ergebnisse dieser Art Versuche mit den Ergebnissen der Versuche unserer Methode qualitativ, aber nicht quantitativ überein. Der Einzelfall ist aber zu unsicher, als daß man auf dieser Grundlage eine Methode aufbauen könnte.

Der Gegensatz, daß die differenzierenden Wirkungen der Aziditätsunterschiede bei alkalisch verpufferten Preßsäften von anderen Faktoren der Methylenblauentfärbung überdeckt werden und bei unverpufferten, wo ihre Unterschiede ja viel geringer sind, eine Störung verursachen, birgt ein Geheimnis, für das sich bisher noch nicht die geringste Möglichkeit einer Deutung gefunden hat.

## K. Besprechung und Zusammenfassung der Ergebnisse.

### 1. Ergebnisse zur praktischen Fragestellung.

Es wurde festgestellt, daß die Preßsäfte abbaukranker Knollen der Kartoffeln unter bestimmten Versuchsbedingungen im Gemisch mit einer Methylenblaulösung schneller aufhellen als die Preßsäfte gesunder Knollen. Eine diagnostische Verwendung der Erscheinung ist vorläufig dadurch erschwert, daß eine Differentialdiagnose zwar sehr leicht und auch eindrucksvoll darzustellen ist, daß aber die absoluten Werte nicht objektiv reproduzierbar sind. Das Verhältnis der Aufhellungszeiten einer abbaukranken und einer gesunden Herkunft scheint unter verschiedenen äußeren Versuchsbedingungen, bei denen verschiedene absolute Werte festgestellt werden, immer gleich zu sein. Es kann aber vorläufig noch kein Wertmaßstab angegeben werden, nach dem eine beliebige Herkunft jederzeit zu beurteilen wäre. Vorläufig ist die diagnostische Verwendung nur unter den schwierigen Umständen möglich, daß zu jeder zu untersuchenden Knolle eine Knolle bekannten Herkunftsverwertes verglichen wird.

### 2. Ergebnisse zur theoretischen Fragestellung.

Unter den Bedingungen der Schardingerschen Reaktion zeigen alkalisch verpufferte Preßsäfte abbaukranker Kartoffelknollen schnellere Reduktionswirkungen als diejenigen gesunder Knollen. Unterläßt man den Aldehydzusatz, dann ist die Geschwindigkeit der Reduktionswirkung im Durchschnitt etwas geringer. Es sind also sowohl in den Preßsäften

kranker wie in denjenigen gesunder Knollen genügende Mengen von Wasserstoffdonatoren vorhanden.

Dabei ist zu beachten, daß die Reduktionswirkung weniger an der eigentlichen Methylenblauentfärbung als an der Gesamtaufhellung des Glasinhaltes beurteilt werden muß; denn es ist wahrscheinlich, daß das rote Körper-Redoxsystem des Melaninkomplexes mit dem Methylenblau und seiner Leukostufe ein Gleichgewichtssystem bildet. Erst die Entfärbung des Farbkörpergemisches, dessen Komponenten als reversible Redoxsysteme ähnliche Normalpotentiale haben, gibt Anhaltspunkte für die Reduktionswirkung, die an der Aufhellung des Glasinhaltes zu erkennen ist.

Bei der beschriebenen Art der Verpufferung mit Phosphatpuffern entsteht eine Aziditätsdifferenz zwischen den verpufferten Preßsaftlösungen gemischen kranker und gesunder Knollen, die nach Wartenberg (28) auf verschiedene Eigenpufferungen der Preßsätze zurückzuführen sind, welche mit dem Gesundheits- bzw. Abbauzustand parallel gehen. Der Unterschied in der Reduktionswirkung kann aber nicht auf dem Aziditätsunterschied beruhen, denn die Aziditätsabhängigkeit des Vorganges steht im umgekehrten Verhältnis zu den tatsächlichen Aziditätsdifferenzen. Es muß vielmehr angenommen werden, daß ein Faktor mit dem Abbau steigt, der selbst die Wirkung des gegensätzlich gerichteten Aziditätsverhältnisses weit überdeckt.

In der Einleitung wurde die Frage gestellt, ob die Unterschiede in den Redoxpotentialen in den Gewebebreiaufschlämmungen kranker und gesunder Kartoffelknollen, die Wartenberg und Hey (27) gefunden haben, auf Unterschiede in den Dehydrasewirkungen zurückzuführen sind. Es ist ohne Zweifel eine Parallele zu diesen beiden Erscheinungen vorhanden. Wie die Kausalverbindung ist, welche der beiden Erscheinungen die primäre Ursache anzeigt, oder ob beide die Folgen einer dritten Ursache sind, bleibt vorläufig noch ungewiß.

### Schriftenverzeichnis.

- 1 Bechhold, H. und Erbe, F. Zur Biologie der Kartoffel. Studien über die Kolloidstruktur der Kartoffelknolle. Unterschiede zwischen Vital- und Abbauknollen. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt, **20**, 111. (1932.)
- 2 Bernheim, F. Die Aldehydoxydase der Kartoffel. Biochemical Journ., **22**, 344.
- 3 Boas, F. Beiträge zur Kenntnis des Kartoffelabbaues. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, **29**, 171. (1919.)
- 4 Boas, F. Zum Kartoffelabbau. Nachrichtenblatt für den deutschen Pflanzenschutzdienst, **11**, 66. (1931.)
- 5 Boas, F. und Merkenschlager, F. Pflanzliche Tyrosinasen. Biochemische Zeitschrift, **155**, 197. (1925.)
- 6 Bunzel, H. H. Oxydases in healthy and in curly-dwarf potatoes. Journ. of Agricult. Res., **2**, 373. (1914)
- 7 Dobry, G. Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. I—V. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. **21**, 10 u. 321 (1911). **22**, 204 u. 401 (1912). **25**, 4 (1915).
- 8 Friedheim, E. A. H. Ein natürliches, die Zellatmung katalysierendes Redoxsystem. Naturwissenschaften, **21**, 177. (1933.)
- 9 Haehn, H. Die Melaninzahl der Kartoffel. Zeitschrift für Spiritusindustrie, **43**, 90, 104 und 111. (1920.)
- 10 Kahlo, H. Zur Physiologie der Kartoffel. II. Ein Beitrag zur Diagnose abbaukranker Knollen. Phytopathologische Zeitschrift, **8**, 323. (1935.)
- 11 Klinkowski, M. Zur Biologie der Kartoffel. Beiträge zur Kenntnis der Kartoffelknollenkatalase. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **20**, 91. (1932.)
- 12 Marx, Th. und Merkenschlager, F. Zur Biologie der Kartoffel. Beobachtungen und Untersuchungen über den Verlauf des Kartoffelabbaues. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **19**, 413. (1932.)
- 13 Merkenschlager, F. Tafeln zur vergleichenden Physiologie und Pathologie der Kulturpflanzen. Berlin (1927.)
- 14 Michaelis, L. Oxydations-Reduktions-Potentiale. II. Auflage. Berlin. (1933.)
- 15 Michlin, D. und Severin, B. Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydoreduktase. III. Mitteilung. Biochemische Zeitschrift, **237**, 339. (1931.)
- 16 Oppenheimer, C. Handbuch der Biochemie, **1**. Jena (1924), desgl. Erg.-Bd. zu Bd. 1.
- 17 Pfankuch, E. Enzymatische Reduktion der Ascorbinsäure. Naturwissenschaften, **22**, 821. (1934.)
- 18 Pfankuch, E. und Lindau, G. Zur Biochemie des Kartoffelabbaues. II. Biochemische Zeitschrift, **277**, 129. (1935.)
- 19 Pfankuch, E. Zur Biochemie des Kartoffelabbaues. III. Biochemische Zeitschrift, **279**, 115. (1935.)
- 20 Pincussen, L. Monophenolasen, Tyrosinasen. Handbuch der Biochemie (Oppenheimer). Ergänzungswerk, Bd. 1, **A**, 537. (1923.)
- 21 Raper, H. S. Die Einwirkung von Tyrosinase auf Tyrosin. Fermentforschung, **9**, N. F. **2**, 206—213. (1923.)

- 324 Hans Wartenberg und Gero Lindau: Studien über die „Dehydrasewirkungen“ usw.
- 22 Ruhland, W. und Wetzel, K. Zur sogenannten Blattrollkrankheit der Kartoffelpflanze. Sächsische Akademie der Wissenschaften. Mathem.-phys. Kl., **85**, 141. (1933.)
- 23 Rusinow, P. G. Einige Daten zur Physiologie des Zusammenrollens der Kartoffelblätter. Morbi Plantarum. Scripta Sectionis Phytopathologiae Horti Botanici Principalis. XIX. Nr. 3—4. 148. (1930.) (Russisch mit deutscher Zusammenfassung.)
- 24 Schweizer, G. Ein Beitrag zur Ätiologie und Therapie der Blattrollkrankheit bei der Kartoffel. Phytopathologische Zeitschrift, **2**, 537. (1930.)
- 25 Sorauer, P. Die angebliche Kartoffelepidemie, genannt die „Blattrollkrankheit“. Internat. phytopathol. Dienst. Jahrg. I. Stück 2, 43. Beilage zur Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. (1908.)
- 26 Thung, T. H. Physiologisch onderzoek met betrekking tot het virus der blattrollziekte van de aardappelplant, *Solanum tuberosum* L. Tijdschrift over Plantenziekten, **34**, 1. (1928.)
- 27 Wartenberg, H. und Hey, A., 1932. Hey, A. Zur Biologie der Kartoffel. Die Diagnose des Abbaugrades der Kartoffel durch elektrometrische Messung. Vorläufige Mitteilung. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **20**, 79 (1932). — Wartenberg, H., Hey, A. und Urhan, O. Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. I. Mitteilung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **21**, 331. (1935.) — Wartenberg, H., Hey, A. und Tabin, A. Untersuchungen über die Azidität des Gewebebreies der Kartoffelknolle. (Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. II. Mitteilung.) Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, **21**, 499. (1935.) — Wartenberg, H. Die Platin-Gold-Differenz bei der Potentialbildung indifferenter Elektroden im Gewebebrei der Kartoffelknolle. Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik, **24**, 711. (1935.) — 1936. Wartenberg, H. und Hey, A. Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. III. und IV. Mitteilung. Veröffentlichung in Bearbeitung.
- 28 Wartenberg, H. Über die Pufferungen der Preßsäfte abbaukranker und gesunder Knollen der Kartoffel. Im Manuscript.
- 29 Whitehead, T. The physiology of potato-leaf-roll. I. On the respiration of healthy and leaf-roll infected potatoes. Ann. Appl. Biol. **21**, 48. (1934.)
- 30 Wieland, H. und Sutter, H. Beiträge zur Wirkungsweise der Oxydasen und Peroxydasen. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, **63**, 66 (1930).

Aus dem Institut für spezielle Botanik  
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

---

## Ueber die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen. II.

Von

Ernst Gäumann.

Mit 1 Textabbildung.

In unserer ersten Mitteilung (diese Zeitschrift, 8, 1935, S. 183 bis 196) haben wir über Versuche mit einigen Pflanzenarten berichtet, die in einer Gärtnerei spontane Wachstumsabweichungen gezeigt und dadurch den Anlaß zum Aufsuchen der Erdstrahlen gegeben hatten. Von Anhängern der Erdstrahlentheorie, mit welchen wir diese Versuche besprachen, wurde nun aber geltend gemacht, daß es vielleicht andere Pflanzenarten gebe, die für Erdstrahlen noch sensibler seien als die in unserer ersten Mitteilung geprüften Versuchspflanzen, z. B. Gurken, Tomaten und Pelargonien. Wir haben deshalb im Jahre 1935 die Feld- und die Laboratoriumsversuche wiederholt, und zwar mit Gurken, Tomaten und Pelargonien. Die Versuchsanordnung geht aus Abb. 1 hervor.

Die Gurken (Sorte „Quedlinburger“) wurden am 6. Juni in Gruppen in der Mitte der 80 cm breiten Beetstreifen ausgesät; die Gruppen waren 30 cm voneinander entfernt und wurden am 3. Juli auf drei Pflanzen ausgelichtet. Ernte am 9. September durch Abschneiden der Pflanzen unmittelbar über dem Boden.

Die Tomaten (Sorte „Lukullus“) wurden am 20. März in Saatschalen ausgesät, am 14. Juni aufs Feld verpflanzt (je zwei Stück je Versuchsbeet), am 3. und am 12. Juli an Stäbe aufgebunden und am 10. September durch Abschneiden über dem Boden geerntet.

Die Pelargonien („Geranien“, *Pelargonium zonale*, Sorte „Meteor“) waren aus Stecklingen gezogen und am 13. Mai eingetopft worden; am 14. Juni wurden möglichst gleichartige Individuen aufs Feld verpflanzt, je fünf schachbrettförmig auf ein Versuchsbeet. Ernte am 10. September durch Abschneiden über dem Boden.

Die Methodik und die Durchführung der Versuche sind dieselben wie in unserer ersten Mitteilung. Wir beschränken uns daher auf die Wiedergabe der Ergebnisse (Tabelle 1). Die Reihenfolge der Aufzählung geht in Abb. 1 von links nach rechts.

Alle Versuchsergebnisse lauten gleichsinnig auf einen Minderertrag innerhalb der Strahlungszone. Bei den Gurken und den Tomaten sind diese Mindererträge sowohl im Frischgewicht als in der Trockensubstanz rechnerisch sichergestellt, mit Ausnahme des Frischgewichtes der Gurkenfrüchte in Versuchsreihe 2 und des Trockengewichtes des Gurkenkrautes in Versuchsreihe 1; die Differenz liegt bei diesen zwei Zahlenpaaren innerhalb des rechnerischen Schwankungsbereiches. Durch die eindeutige

Tabelle 1.  
Die Ergebnisse der Feldversuche auf dem Zollikerberg.

Kultur	Bestrahlt		Unbestrahlt		Differenz D	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz
	Zahl der Par- zellen	Ernte in Gramm	Zahl der Par- zellen	Ernte in Gramm		
Grüngewicht.						
Gurken						
Kraut	1. Reihe . .	10	1663,0 ± 81	8	2109,2 ± 105	+ 446,2
	2. Reihe . .	9	2020,1 ± 64	9	2394,1 ± 117	+ 374,1
Früchte	1. Reihe . .	10	4461,0 ± 212	8	5482,0 ± 193	+ 1021,0
	2. Reihe . .	9	4934,1 ± 336	9	5836,3 ± 379	+ 902,3
Tomaten						
Kraut	1. Reihe . .	12	3866,6 ± 123	10	4891,0 ± 274	+ 1024,4
	2. Reihe . .	11	3857,2 ± 212	11	4744,5 ± 264	+ 887,3
Früchte	1. Reihe . .	12	4495,8 ± 174	10	5246,0 ± 281	+ 750,2
	2. Reihe . .	11	4427,2 ± 217	11	5572,7 ± 246	+ 1145,5
Pelargonien						
Kraut	1. Reihe . .	8	488,5 ± 30	6	513,0 ± 33	+ 24,5
	2. Reihe . .	6	335,8 ± 40	8	386,2 ± 44	+ 50,4
Trockengewicht.						
Gurken						
Kraut	1. Reihe . .	10	160,2 ± 7,3	8	179,8 ± 9,9	+ 19,6
	2. Reihe . .	9	189,5 ± 5,4	9	231,2 ± 13,1	+ 41,7
Tomaten						
Kraut	1. Reihe . .	12	439,1 ± 22,6	10	537,5 ± 30,7	+ 98,4
	2. Reihe . .	11	433,9 ± 23,7	11	533,3 ± 23,1	+ 99,4
Pelargonien						
Kraut	1. Reihe . .	8	82,8 ± 5,6	6	88,7 ± 5,0	+ 5,9
	2. Reihe . .	6	64,3 ± 4,3	8	69,3 ± 6,0	+ 5,0

und kräftige Depression der Ernteerträge der Gurken und Tomaten in der Strahlungszone werden somit die Beobachtungen der Rutengänger bestätigt, wonach Gurken und Tomaten das Vorhandensein von Störungen besonders empfindlich anzeigen.

Bei den Pelargonien liegen zwar die Ausschläge ebenfalls in der gleichen Richtung; doch sind die individuellen Schwankungen der einzelnen Stöcke derart groß, daß die Differenz zwischen den zusammengehörenden Versuchshälften, trotz der verhältnismäßig großen Zahl von Wiederholungen (6 bzw. 8), nicht über den rechnerischen Schwankungsbereich hinauskommt;

die Mindererträge der Pelargonien in der Strahlungszone sind daher statistisch nicht sichergestellt.

Wir dürfen somit sagen: soweit die Ergebnisse der Feldversuche der Tab. 1 rechnerisch sichergestellt sind, ergeben sie deutliche Mindererträge innerhalb der Strahlungszone, verglichen mit den parallelen Parzellen außerhalb derselben; wo die Versuchsergebnisse rechnerisch nicht sichergestellt sind, liegen sie immerhin ausnahmslos in der Richtung derartiger Mindererträge.

Gurken Tomaten Pelargonien Gurken Tomaten Pelargonien.



Abb. 1.  
Plan der Freilandversuche 1935 auf dem Zollikonberg.

Wir fragen nunmehr nach den Ursachen dieser Mindererträge; liegen sie bei den Erdstrahlen oder, wie in unserem ersten Bericht vermutet wurde, bei Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung oder bei Verschiedenheiten in der sonstigen Eignung des Bodens? Wir suchten die Antwort auf zweierlei Weise zu finden: 1. durch Topfversuche auf dem strahlungsfreien Gelände der Technischen Hochschule in Zürich

(ähnlich wie in unserem ersten Bericht), und 2. durch Vertauschen von bestrahlter und nicht bestrahlter Erde auf dem Versuchsfeld selbst.

Die Topfversuche auf Rollwagen wurden mit Gurken, Tomaten und Pelargonien durchgeführt, mit 20 Töpfen je Gruppe, also beispielsweise 20 Töpfe Gurken auf Erde aus der Strahlungszone und 20 Töpfe Gurken auf anstoßender Erde außerhalb der Strahlungszone; dasselbe mit Tomaten und mit Pelargonien, im ganzen 120 Vegetationstöpfe. Die technischen Einzelheiten sind dieselben wie in unserem ersten Bericht, nur daß jeder Topf 6 kg lufttrockene Erde erhielt statt 5 kg; Düngung wurde, wie im Jahre 1934, absichtlich keine verabreicht.

Die Gurken wurden am 7. Juni in die Töpfe ausgesät, am 27. Juni auf fünf gleichmäßige Pflanzen je Topf gelichtet und am 29. Juli durch Abschneiden über dem Boden geerntet.

Die Tomaten wurden am 20. März in Saatschalen gesät, am 11. Juni in die Versuchstöpfe übergepflanzt, am 27. Juni auf die vier größten Pflanzen gelichtet und am 29. Juli durch Abschneiden über dem Boden geerntet.

Die Pelargonien wurden am 26. März als Stecklinge angezogen, am 13. Mai eingetopft, am 11. Juni in die Versuchstöpfe eingebracht (je zwei pro Topf) und am 3. Oktober durch Abschneiden über dem Boden geerntet.

Die Ergebnisse dieser Laboratoriumsversuche (Tabelle 2) sind, wie diejenigen des Jahres 1934, wegen der Ausgeglichenheit der Bedingungen (z. B. vollkommen durchmischte und gesiebte Erde) und wegen der noch größeren Zahl der Wiederholungen (20) womöglich noch deutlicher als diejenigen der Feldversuche; die Differenz ist bei allen Zahlenpaaren, mit Ausnahme der Pelargonien-Trockengewichte, rund 10 bis 20 mal größer als der mittlere Fehler der Differenz; die Ausschläge sind also rechnerisch vollkommen sichergestellt. Sie zeigen, daß dieselben Mindererträge wie in den Feldversuchen, nur noch viel stärker, auch dann auftreten, wenn wir die betreffenden Versuchspflanzen auf den betreffenden Böden außerhalb des Strahlungsfeldes kultivieren. Die in Tabelle 2 festgestellten Ertragsverminderungen auf Erde aus der Strahlungszone können (da ja unser Versuchsgelände strahlungsfrei ist und die Rollwagen ihren Standort täglich wechseln) nicht durch eine unmittelbare Wirkung der Erdstrahlen auf die Pflanzen oder auf den Boden erklärt werden, sondern sie müssen unmittelbar bedingt sein durch Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung oder in der sonstigen Eignung des Bodens selbst.

Gegen diese Deutung der Topfversuche und gegen die Methode der Topfversuche selbst lassen sich, soweit wir die Problemlage zu überblicken vermögen, drei Einwände erheben:

1. kann man sagen, die Erdstrahlen selbst hätten diese Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung oder in der sonstigen Eignung des Bodens, die wir durch Tabelle 2 feststellten, verursacht; durch diese

Tabelle 2.

**Die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche 1935 mit Erde vom Zollikerberg.**  
 (Gewichte in Gramm je Topf; jede Gruppe umfaßte 20 Töpfe mit bestrahlter und 20 Töpfe mit nicht bestrahlter Erde.)

Kultur	Erde aus der Strahlungszone	Erde von außerhalb der Strahlungszone	Differenz D	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz
Gurken	Grüngewicht . . .	$128,4 \pm 2,22$	$166,3 \pm 3,12$	+ 37,9
	Trockengewicht . . .	$14,7 \pm 0,32$	$19,2 \pm 0,32$	+ 4,5
Tomaten	Grüngewicht . . .	$96,4 \pm 2,31$	$152,2 \pm 1,52$	+ 55,8
	Trockengewicht . . .	$12,4 \pm 0,37$	$21,4 \pm 0,30$	+ 9,0
Pelargonien	Grüngewicht . . .	$125,2 \pm 3,01$	$166,8 \pm 2,83$	+ 41,6
	Trockengewicht . . .	$21,8 \pm 0,54$	$25,7 \pm 0,39$	+ 3,9

Annahme würde, wie wir schon in unserem ersten Bericht erwähnten, das Einflußgebiet der Erdstrahlen von der unmittelbaren Sphäre der lebenden, wachsenden Pflanze in die mittelbare Sphäre des Bodens hinaufgeschoben. Auf diesen Einwand vermögen wir weder mit ja noch mit nein zu antworten: wir wissen es nicht. Das Eine sei jedoch betont, daß die Beweislast für die Richtigkeit derartiger Annahmen oder Behauptungen bei den Erdstrahlenanhängern liegt; es liegt bei ihnen, einmal zu beweisen, daß die Erdstrahlen wirklich derartige Umstellungen in der Kultureignung der Böden hervorzurufen vermögen; es genügt auf die Dauer nicht, alle möglichen spekulativen Einwände zu erheben.

2. kann man sagen, die Erdstrahlen hätten das Bakterienwachstum im Boden vernichtet und durch diese Störungen mittelbar unsere Mindererträge bewirkt. Auch hier kann unsere Antwort nur lauten: eine derartige Dentung ist wohl möglich, aber nicht wahrscheinlich; und jedenfalls liegt es wieder bei den Erdstrahlenanhängern, nun einmal schlüssig zu beweisen, daß die Erdstrahlen derartige vernichtende Wirkungen auf die Bodenbakterien ausüben können und daß diese Vernichtung genügt, um die von uns festgestellten Mindererträge zu erklären. Wenn wirklich die Erdstrahlen an allem schuld wären, so wäre es schwer zu verstehen, warum die Bodenbakterien in der strahlungsfreien Versuchsanlage der Technischen Hochschule, wo sie durch keine Strahlungseinflüsse mehr belästigt wurden, in der Erde aus der Strahlungszone nicht ebenso gut gediehen wie in der Erde von außerhalb der Strahlungszone. Und

3. kann man sagen, daß an der Erde aus der Strahlungszone die Nachwirkungen der früheren Strahlungen noch haften und sich deshalb in den Topfversuchen unmittelbar geltend machen; dieser Einwand ist von Commer (1935) erhoben und mit einem Beispiel aus seinem Erfahrungsbereich (Radiumquellen) belegt worden. Auch hier müssen wir

als Botaniker die Diskussion einstellen und das Feld dem Physiker überlassen.

Wir wollen also einräumen, daß zur wissenschaftlich sauberen, negativen Beweisführung, die alle Eventualitäten eliminiert, noch ein langer Weg wäre; ihn zu beschreiten haben wir weder die Möglichkeit noch die Zeit. Nach unserer Auffassung liegt es vielmehr an den Rutengängern, nun ihrerseits einwandfrei zu beweisen, daß ihre Deutungen und Einwände auf einem realen Boden stehen.

Zum Schluß möchten wir ein experimentum crucis besprechen, das wir auf dem Versuchsfeld Zollikerberg durch Vertauschen der Böden durchgeführt haben. An zwei Stellen der bestrahlten Zone und an zwei Stellen außerhalb derselben wurde in vier langen Gruben (siehe Abb. 1, Nr. 1—4), die Erde ausgegraben; die Erde jeder Grube wurde für sich durchgearbeitet und gesiebt. Die Erde aus der Strahlungszone werden wir künftighin abgekürzt als „bestrahlte“ Erde bezeichnen, die Erde aus der entsprechenden Grabstelle außerhalb der Strahlungszone abgekürzt als „nicht bestrahlte“ Erde.

In die Gruben wurden besonders gebaute Kisten von 380 cm Länge, 35 cm Breite und 18 cm Tiefe, die mit Lehm sorgfältig abgedichtet waren, eingesenkt. Die eine Kiste des Kistenpaars 1a (Abb. 1) erhielt Erde aus der Grabstelle 2, also Erde von außerhalb der Strahlungszone („nicht bestrahlte“ Erde); diese Kiste ist in Abb. 1 weiß gelassen. Die andere Kiste des Kistenpaars 1a erhielt Erde aus der Grabstelle 1 selbst, also Erde von ihrem eigenen Standort in der Strahlungszone („bestrahlte“ Erde); diese Kiste ist in Abb. 1 schräg schraffiert. Nebeneinander liegen somit bei 1a zwei Kisten mit Erde von ungleicher Herkunft; beide sind gleichmäßig der Einwirkung der Erdstrahlen ausgesetzt.

Das analoge Versuchspaar 2a erhielt die gleiche „bestrahlte“ und „nicht bestrahlte“ Erde wie das Versuchspaar 1a, nur liegen hier beide Kisten außerhalb der Strahlungszone; sie sind also der Einwirkung der Erdstrahlen entzogen. Dasselbe ist der Fall bei den Versuchsgruppen 1 b und 2b, 3a und 4a, 3b und 4b.

Die Versuchsfragen lauten demnach:

1. Welchen Einfluß haben die Erdstrahlen, wenn die Versuchserde von außerhalb der Strahlungszone stammt und zu Beginn des Versuches in das Strahlungsfeld gebracht wird? Und ...
2. Verändert sich die Kulturuntauglichkeit „bestrahlter“ Erde, wenn diese zu Beginn des Versuches aus dem Strahlungsbereich weggenommen und außerhalb des Strahlungsfeldes aufgestellt wird?

Ein erster Versuch wurde am 10. Mai 1935 durch Aussaat von Ackersenf in die Kistenpaare 1a/2a und 3a/4a eingeleitet. Am 6. Juni erfolgte eine gleichmäßige Durchlichtung. Leider erwiesen sich zwei Kisten als

nicht vollkommen dicht, so daß einzelne Pflanzen ihre Wurzeln in die Tiefe senden und dadurch etwas kräftiger wachsen konnten als die übrigen; die Versuchsgruppe war daher nicht vollkommen eben; wir haben sie deshalb am 3. Juli durch Abschneiden über dem Boden geerntet und den Ertrag jeder Kiste, ohne Rücksicht auf die Unterteilung in Parzellen, als Ganzes gewogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 a aufgeführt.

Welchen Einfluß haben die Erdstrahlen, wenn die Versuchserde von außerhalb der Strahlungszone stammt und zu Beginn des Versuches in

Tabelle 3 a.

**Die Ergebnisse der Feldversuche 1935 mit Ackersenf auf vertauschten Böden.**  
(Gewichte je Kiste in Gramm.)

Versuchsgruppe	Ernte in Gramm	Gleich bestrahlte, ungleichartige Kisten	Ungleich bestrahlte, gleichartige Kisten
		Differenz	Differenz
Grüngewicht.			
Kistenpaar 3 a (in der Strahlungszone liegend)			
A. „Bestrahlte“ Erde . .	820	B—A: + 320	C—A: + 20
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	1140		
Kistenpaar 4 a (außerhalb der Strahlungszone liegend)			
C. „Bestrahlte“ Erde . .	840	D—C: + 220	D—B: — 80
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	1060		
Kistenpaar 1 a (in der Strahlungszone liegend)			
A. „Bestrahlte“ Erde . .	1190	B—A: + 360	C—A: + 50
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	1550		
Kistenpaar 2 a (außerhalb der Strahlungszone liegend)			
C. „Bestrahlte“ Erde . .	1240	D—C: + 370	D—B: + 60
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	1610		
Trockengewicht.			
Kistenpaar 3 a (in der Strahlungszone liegend)			
A. „Bestrahlte“ Erde . .	166,0	B—A: + 63,0	C—A: + 11,6
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	229,0		
Kistenpaar 4 a (außerhalb der Strahlungszone liegend)			
C. „Bestrahlte“ Erde . .	177,6	D—C: + 28,8	D—B: — 22,6
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	206,4		
Kistenpaar 1 a (in der Strahlungszone liegend)			
A. „Bestrahlte“ Erde . .	254,6	B—A: + 27,8	C—A: — 2,6
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	282,4		
Kistenpaar 2 a (außerhalb der Strahlungszone liegend)			
C. „Bestrahlte“ Erde . .	252,0	D—C: + 49,4	D—B: + 19,0
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	301,4		

die Strahlungszone gebracht wird? Die Antwort ergibt sich aus der 3. Kolonne der Tabelle 3 a. Wenn die Erdstrahlen unmittelbar das pflanzliche Wachstum beeinflussen würden, so müßten die Kistenpaare A—B der Gruppen 1 a und 3 a eine ähnliche Wachstumsstörung aufweisen; denn sie sind in gleicher Weise den Strahlungseinflüssen ausgesetzt. Das tun sie jedoch nicht; die Differenz B minus A der 3. Kolonne der Tabelle 3 a läßt im Gegenteil, sowohl beim Frischgewicht als beim Trockensubstanzertrag, erkennen, daß der Ackersenf (gleich wie in unsern Versuchen des Jahres 1934) auf Erde von außerhalb der Strahlungszone erheblich (um ungefähr ein Drittel bis ein Viertel) besser gedeiht als auf Erde aus der Strahlungszone selbst, und zwar auch dann, wenn diese Erde in der Strahlungszone liegt und somit der vollen Einwirkung der Erdstrahlen ausgesetzt ist. Durch die Wirkung der Erdstrahlen hat somit keinerlei Angleichung der Erträge auf Erde von außerhalb der Strahlungszone an die Erträge auf Erde aus der Strahlungszone selbst stattgefunden.

Zum selben Ergebnis gelangen wir, wenn wir die Ernten auf „nicht bestrahlter“ Erde, welche außerhalb der Strahlungszone lag, vergleichen mit den Ernten auf derselben „nicht bestrahlten“ Erde, welche in der Strahlungszone selbst lagerte und somit der Einwirkung der Erdstrahlen ausgesetzt war (Differenzen D minus B der letzten Kolonne der Tabelle 3 a). In der Versuchsgruppe 3 a/4 a entstand innerhalb der Strahlungszone ein kleiner Minderertrag an Frischsubstanz und an Trockengewicht, in der Versuchsgruppe 1 a/2 a dagegen ein kleiner Mehrertrag: beide liegen innerhalb des normalen Schwankungsbereiches.

Verändert sich die Kulturuntauglichkeit bestrahlter Erde, wenn diese zu Beginn des Versuches aus dem Strahlungsbereich weggenommen und außerhalb des Strahlungsfeldes aufgestellt wird? Die Zulässigkeit dieser Fragestellung ist, wie schon erwähnt, von Commer (l. c.) verneint worden mit dem Hinweis darauf, daß eine langfristige Nachwirkung der Erdstrahlen möglich sei. Dennoch schien es angebracht, die Verhältnisse an Ort und Stelle zu überprüfen.

Wenn die Erde aus der Strahlungszone sich „bessern“ würde, sobald sie außerhalb des Strahlungsbereiches lagert, so müßten die Erträge der in den Versuchsgruppen 2 a und 4 a nebeneinander liegenden Kisten C und D sich aneinander angleichen; das tun sie aber wiederum nicht; denn die Differenzen D minus C, welche zwischen „nicht bestrahlter“ und „bestrahlter“ Erde außerhalb des Strahlungsfeldes entstanden sind, liegen in Tabelle 3 a sowohl für das Frischgewicht wie für den Trockensubstanzertrag in derselben Größenordnung wie die Differenzen B minus A, welche sich zwischen denselben Erden innerhalb des Strahlungsfeldes ergaben. Und auch die Differenzen C minus A (Erde, die aus der Strahlungszone

stammt und außerhalb der Strahlungswirkung aufgestellt wurde, minus dieselbe Erde, wenn sie im Strahlungsfeld selbst aufgestellt wurde) verlaufen in Tabelle 3a widersprechend und liegen überdies im normalen Schwankungsbereich.

Die Versuche mit Ackersenf auf vertauschten Böden vermögen somit keine Anhaltspunkte für eine unmittelbare oder mittelbare Einwirkung der Erdstrahlen zu liefern.

Tabelle 3 b.

**Die Ergebnisse der Feldversuche 1935 mit Gurken (Kraut) auf vertauschten Böden.**  
(Gewichte je Parzellen in Gramm.)

Versuchsgruppe	Ernte in Gramm	Gleich bestrahlte, ungleichartige Kisten	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz	Ungleich bestrahlte, gleichartige Kisten	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz
		Differenz D		Differenz D	
Grüngewicht.					
Kistenpaar 3a (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	119,3 $\pm$ 6,5				
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	137,0 $\pm$ 11,3	B-A: + 17,7	$\pm$ 13,0	C-A: — 2,3	$\pm$ 10,2
Kistenpaar 4a (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	117,0 $\pm$ 7,8				
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	148,2 $\pm$ 9,7	D-C: + 31,2	$\pm$ 12,4	D-B: + 11,2	$\pm$ 14,9
Kistenpaar 1a (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	82,1 $\pm$ 5,0				
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	124,6 $\pm$ 7,1	B-A: + 42,5	$\pm$ 8,7	C-A: + 4,3	$\pm$ 8,1
Kistenpaar 2a (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	86,4 $\pm$ 6,4				
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	120,2 $\pm$ 7,4	D-C: + 33,8	$\pm$ 9,8	D-B: — 4,4	$\pm$ 10,7
Trockengewicht.					
Kistenpaar 3a (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	10,5 $\pm$ 0,4				
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	14,8 $\pm$ 0,6	B-A: + 4,3	$\pm$ 0,72	C-A: — 0,3	$\pm$ 0,89
Kistenpaar 4a (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	10,2 $\pm$ 0,8				
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	15,9 $\pm$ 0,5	D-C: + 5,7	$\pm$ 0,94	D-B: + 1,1	$\pm$ 0,78
Kistenpaar 1a (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	9,7 $\pm$ 0,4				
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	15,0 $\pm$ 1,1	B-A: + 5,3	$\pm$ 1,17	C-A: + 0,1	$\pm$ 0,77
Kistenpaar 2a (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	9,8 $\pm$ 0,6				
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	15,7 $\pm$ 0,8	D-C: + 5,9	$\pm$ 1,00	D-B: + 0,7	$\pm$ 1,36

Die Kisten, welche den Ackersenf getragen hatten, wurden unmittelbar nach der Ernte ausgehoben, bezüglich ihrer Dichtung ausgebessert, hernach wieder eingegraben und eingefüllt; zur Nachfüllung wurde entsprechende „nicht bestrahlte“ und „bestrahlte“ Erde aus den unmittelbar an die Versuchsparzelle angrenzenden Teilen des Feldes verwendet.

Jede dieser Kisten wurde in zehn Parzellen unterteilt; in jede Parzelle wurden am 12. Juli drei Tuffs Gurken ausgesät; am 12. August wurde jeder Tuff auf drei Pflanzen ausgelichtet. Ernte am 9. September durch Abschneiden über dem Boden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 b ausgerechnet.

Welchen Einfluß haben die Erdstrahlen, wenn die Versuchserde von außerhalb der Strahlungszone stammt und zu Beginn des Versuches in das Strahlungsfeld gebracht wird? Die Kisten mit Erde von außerhalb der Strahlungszone (Kisten B) liefern sowohl in der Versuchsgruppe 3 bis 4 als in der Versuchsgruppe 1 bis 2 und sowohl beim Frischgewicht als beim Trockengewicht einen erheblichen Mehrertrag gegenüber den neben ihnen, in derselben Strahlung liegenden Kisten mit Erde aus der Strahlungszone selbst (Kisten A). Die Differenzen B minus A sind überall rechnerisch sichergestellt mit Ausnahme des Grün gewichtes im Kistenpaar 3 a, wo der mittlere Fehler der Differenz außergewöhnlich groß ist; in mehreren Fällen ist die Sicherstellung sogar sehr gut, beträgt doch die Differenz reichlich das Fünffache ihres mittleren Fehlers. Wie der Ackersenf, so werden also auch die Gurken in ihrem Wachstum durch die Erdstrahlen nicht nachweisbar beeinflußt: der Wachstumsunterschied auf „bestrahlter“ und „nicht bestrahlter“ Erde bleibt im Gegenteil auch dann bestehen, wenn die „nicht bestrahlte“ Erde in die Strahlungszone selbst hineingebracht wird. Und er bleibt ferner auch dann bestehen, wenn diese beiden Erdarten außerhalb der Strahlungszone aufgestellt werden (Differenzen D minus C). Weder auf die Erde noch auf die Pflanzen konnte somit irgendein meßbarer Einfluß der Erdstrahlen nachgewiesen werden.

Aber auch dann ist kein meßbarer Einfluß der Erdstrahlen zu beobachten, wenn wir die Kisten B und D vergleichen, also Kisten mit derselben Erde von außerhalb der Strahlungszone, nur daß die eine Kiste in der Strahlungszone, die andere außerhalb derselben liegt: die Differenzen D minus B verlaufen in Tabelle 3 b regellos und liegen ausnahmslos, sowohl beim Frisch- als beim Trockengewicht, im Bereich des rechnerischen Schwankungsbereiches. Und dasselbe ist endlich der Fall bei den Kisten mit „bestrahlter“ Erde: es ist gleichgültig, ob wir sie in die Strahlungszone oder außerhalb der Strahlungszone legen, d. h. es ist gleichgültig, ob sie von den Erdstrahlen bestrahlt werden oder nicht: die Differenzen zwischen den Proben im Strahlungsfeld und den Proben außerhalb des Strahlungsfeldes (Differenzen C minus A) verlaufen in

Tabelle 3 b regellos und befinden sich stets im Rahmen des statistischen Schwankungsbereiches.

Zum selben negativen Ergebnis führte die dritte Versuchsgruppe mit den Kistenpaaren 1 b—2 b und 3 b—4 b. Jede Kiste wurde in zwölf Parzellen unterteilt und am 10. Mai mit Hafer, Sorte Mt. Calme, besät. Ernte am 12. Juli durch Abschneiden über dem Boden. Die Differenzen B minus A sind sowohl beim Frisch- als beim Trockengewicht rechnerisch

Tabelle 3 c.

**Die Ergebnisse der Feldversuche 1935 mit Hafer auf vertauschten Böden.**  
(Gewichte je Parzellen in Gramm.)

Versuchsgruppe	Ernte in Gramm	Gleich bestrahlte, ungleichartige Kisten		Ungleich bestrahlte, gleichartige Kisten	
		Differenz D	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz	Differenz D	Mittlerer Fehler $m_D$ der Differenz
Grüngewicht.					
Kistenpaar 3 b (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	160,3 $\pm$ 2,7	B—A: + 33,2	$\pm$ 8,82	C—A: + 9,1	$\pm$ 8,64
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	193,5 $\pm$ 8,4				
Kistenpaar 4 b (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	169,4 $\pm$ 8,2	D—C: + 31,4	$\pm$ 12,3	D—B: + 7,3	$\pm$ 12,3
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	200,8 $\pm$ 9,1				
Kistenpaar 1 b (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	180,7 $\pm$ 6,1	B—A: + 73,8	$\pm$ 12,6	C—A: + 0,7	$\pm$ 11,8
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	254,5 $\pm$ 11,0				
Kistenpaar 2 b (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	181,4 $\pm$ 10,1	D—C: + 78,2	$\pm$ 13,4	D—B: + 5,1	$\pm$ 14,1
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	259,6 $\pm$ 8,8				
Trockengewicht.					
Kistenpaar 3 b (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	32,6 $\pm$ 1,7	B—A: + 6,8	$\pm$ 2,27	C—A: + 2,1	$\pm$ 2,48
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	39,4 $\pm$ 1,5				
Kistenpaar 4 b (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	34,7 $\pm$ 1,8	D—C: + 6,8	$\pm$ 2,69	D—B: + 2,1	$\pm$ 2,50
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	41,5 $\pm$ 2,0				
Kistenpaar 1 b (in der Strahlungszone liegend)					
A. „Bestrahlte“ Erde . .	40,2 $\pm$ 1,5	B—A: + 10,9	$\pm$ 2,58	C—A: - 2,1	$\pm$ 2,66
B. „Nicht bestrahlte“ Erde	51,1 $\pm$ 2,1				
Kistenpaar 2 b (außerhalb der Strahlungszone liegend)					
C. „Bestrahlte“ Erde . .	38,1 $\pm$ 2,2	D—C: + 16,2	$\pm$ 2,91	D—B: + 3,2	$\pm$ 2,83
D. „Nicht bestrahlte“ Erde	54,3 $\pm$ 1,9				

sichergestellt (Tabelle 3 c), desgleichen die Differenzen D minus C. Anderseits liegen die Differenzen C minus A und D minus B überall im Bereich des statistischen Fehlers und sind daher bedeutungslos. Die Versuche mit Hafer führen deshalb zum gleichen Schluß wie die Versuche mit Ackersenf und mit Gurken: es liegen keinerlei Anhaltspunkte für eine unmittelbare Einwirkung der Erdstrahlen auf unsere Versuchspflanzen vor.

Wir möchten damit unsren Bericht und unsere Beschäftigung mit Erdstrahlen vorläufig abschließen und unsren Mitarbeitern, vor allem Herrn Obergärtner O. Riethmann, für ihre Sorgfalt unsren Dank wiederholen. Wir haben zwar beiläufig auch noch andere Versuche ausgeführt, so am 3. Juli 1935 Tomaten in und außerhalb der Strahlungszone und am 12. Juli 1935 Pelargonien in und außerhalb der Strahlungszone mit *Bacterium tumefaciens* (Stamm IIa Stapp) geimpft: die entstehenden Krebse waren in- und außerhalb der Strahlungszone gleich groß; ein Einfluß der Erdstrahlen war weder auf das Angehen noch auf das Wachstum der pflanzlichen Tumore festzustellen.

Alle unsere Versuche führten deshalb zum gleichen Ergebnis, daß nämlich bei der Erdstrahlenzone auf dem Zollikerberg keine Anhaltspunkte für einen unmittelbaren Einfluß der Erdstrahlen auf das Wachstum unserer Versuchspflanzen bestehen, sondern daß die Wachstumsabweichungen sich zwanglos durch Bodenverhältnisse erklären. Mit dieser negativen Feststellung möchten wir zum Problem, ob es „Erdstrahlen“ gebe oder nicht und was sie gegebenenfalls seien, nicht Stellung nehmen; dies ist Sache des Physikers. Wir möchten mit unserer negativen Feststellung auch nicht sagen, daß jene Strahlungsformen, die als „Erdstrahlen“ zusammengefaßt werden, in jedem Falle bedeutungslos seien; das wissen wir nicht. Hierfür müßten noch andere Beispiele durchgearbeitet werden; doch sind auch die Erfahrungen von Fabricius (1936) in München nicht ermutigend. Wir möchten als Ergebnis unserer mühevollen Versuche nur feststellen, daß in dem einen Beispiel, das wir gründlich prüften, keinerlei Anhaltspunkte für einen unmittelbaren Einfluß der Erdstrahlen auf das Wachstum unserer Versuchspflanzen gewonnen werden konnten. Es liegt nun an den Rutengängern, den Gegenbeweis anzutreten und ein Beispiel zu beschaffen, das einen derartigen Einfluß unzweifelhaft zeigt; dann erst kann die Aussprache fruchtbar weitergehen.

### Zitierte Literatur.

- Commer, H., 1935. Erdstrahlenforschung und Landwirtschaft. Deutsche landwirtschaftliche Presse, **62**, Nr. 52, S. 637—638.  
 Fabricius, L., 1936. Ein neuer Waldversuch mit der Wünschelrute. Forstwissenschaftliches Centralblatt, **58**, S. 1—13.  
 Gäumann, E., 1935. Über die pflanzenpathogene Wirkung der Erdstrahlen. I. Phytopathologische Zeitschrift, **8**, S. 183—196.

Aus dem Laboratorium für Pflanzenschutz  
des Instituts für Neuen Rohbast (Moskau).

Leiter: L. Gitman.

Zur Frage der Verschiedenheit der zwei Septorien des Kendyrs  
*Septoria littorea* Sacc. und *Septoria apocyni* Chochrjak.

Von

L. Gitman und E. Boitschenko.

Mit 9 Textabbildungen.

Die Differenzierung der einzelnen *Septoria*-Arten geschieht gewöhnlich auf Grund der Länge ihrer Sporen. Andere morphologische Merkmale, wie das Maß der Pykniden, ihre Form usw., die stärkeren Veränderungen unterliegen, können der Artenbestimmung nicht zugrunde gelegt werden.

Laut Diedicke (5) erscheinen die *Septoria*-Pykniden nicht als gewöhnliche Pykniden vom *Phoma*-Typus, die wir in der verwandten Gattung *Rhabdospora* vorfinden. Sie erinnern eher dank der Breite ihrer Öffnung,



*Cylindrosporium.*



*Rhabdospora.*



*Septoria apocyni.*

Abb. 1.

die durch die geschlossenen Ränder des Lagers gebildet wird, an Pseudo-pykniden (Abb. 1). Potebnia (13) weist darauf hin, daß die Form der *Septoria*-Pykniden im Entwicklungszyklus ein und derselben Form bedeutenden Veränderungen unterliegt. So erscheinen die jungen Pykniden

von *Septoria astragali* Desm. und vieler anderer als typische *Phleospora*-Fruchtkörper, dann wachsen die Wände aus, biegen sich ein, und es entsteht eine Pseudopyknide *Septoria*.

Laibach (8) hält überhaupt *Septoria*, *Phleospora*, *Septogloeum*, *Cylindrosporium*, *Rhabdospora* für eine Gattung, wobei er letztere Gattung für ein Stadium in der Entwicklung von *Septoria* anspricht. Aus oben Dargelegtem ist ersichtlich, wie schwierig es wäre, bei der Bestimmung von der Form und dem Ausmaß der Pykniden, als den Grundmerkmalen, auszugehen.

Garman und Stevens (6) legten der Klassifikation verschiedener *Septoria*-Arten das Ausmaß der Sporen zugrunde. Sie verteilten somit alle gegen das Jahr 1920 bekannten *Septoria*-Arten nach Gruppen, wobei die Zugehörigkeit einer *Septoria*-Art zu der oder jener Gruppe nach der Durchschnittslänge der Sporen für die gegebene Art bestimmt wurde: von 10—20  $\mu$ , von 20—30  $\mu$  usw. Trotzdem erscheint auch dieses Merkmal nicht immer genügend stabil. Starke Veränderungen der Dimension der Sporen, vor allem ihrer Länge, wurden von einer Reihe von Autoren innerhalb ein und derselben Art in Abhängigkeit von den Entwicklungsbedingungen verzeichnet. So beobachtete Norton (11) bei *Septoria lycopersici* Speg. Veränderungen der Dimensionen ihrer Sporen, sobald er Kreuzimpfungen mit derselben an verschiedenen Wirten vornahm. Im Vergleich zu der Ausgangspflanze (Wirt—Tomaten) wurden auf der Kartoffel die Sporen länger und auf *Datura tatula* — kürzer.

Beach (1) erforschte systematisch die Schwankungen in den Dimensionen der Sporen bei *Septoria tritici* Desm. und *Septoria verbascicola* Berk. et Curt. Er stellte fest, daß bei einer Kreuzimpfung verschiedener Wirte mit ein und derselben *Septoria*-Art eine gewisse Veränderung im Ausmaß ihrer Sporen beobachtet wird, die jedoch weniger wesentlich erscheint als bei Kultivierung derselben in gänzlich verschiedenen Feuchtigkeits-, Beleuchtungs- und anderen Bedingungen. Außerdem konstatierte er eine saisonmäßige Veränderung der Dimensionen der Sporen bei *Septoria tritici*; die im Sommer gesammelten Sporen waren kürzer als die im Winter gesammelten.

Ähnliche Angaben bringt Weber (18), der für die Sommersporen 50/2,2  $\mu$  angibt und für die Wintersporen 76/3  $\mu$ .

Derartige Veränderungen des Ausmaßes der Sporen unter der Einwirkung des Wirtes und selbst seiner verschiedenen Organe werden auch bei anderen Gattungen parasitärer Pilze angetroffen und erscheinen folglich für die Gattung *Septoria* nicht typisch. So erhielt z. B. Palmiter (12) bei der Infizierung verschiedener Apfelsorten mit ein und derselben Kultur von *Venturia inaequalis* Sporen von verschiedenem Ausmaß. Auf ein und derselben Varietät waren die Sporen der unteren Seite des Blattes sogar kürzer als die der oberen. Die Schwankungen des Ausmaßes betrugen gegen 20% von der Länge der Sporen.

Beach (1) äußert die Befürchtung, daß bei der Messung auch einer großen Anzahl von Sporen, jedoch an einer geringen Anzahl von Mustern dieses systematische Kennzeichen irreführen kann. Es muß folglich vollkommen gleichartiges Material und womöglich bei verschiedenartigen Entwicklungsbedingungen untersucht werden.

Wir haben zwei auf dem Kendyr (*Apocynum venetum*) vorkommende *Septoria*-Arten verglichen. Eine von ihnen bildet auf den Blättern kleine Flecken mit rötlichen Rändern; sie wurde von Saccardo (14) als *Septoria littorea* beschrieben und besitzt Sporen von 50 bis 60  $\mu$  Länge. Auf den Stengeln des Kendyrs wurde eine *Septoria*-Art vorgefunden, die sich durch den Umfang ihrer Sporen kraß von *Septoria littorea* unterscheidet: ihre Länge beträgt 25 bis 46  $\mu$ . Sie verursacht umfangreiche, trübweiße konzentrische Flecken, die sich längs des ganzen Stengels verbreiten, insbesondere auf seinem unteren Teil. Laut den Angaben von Chochrjakow (4) erscheint sie als eine besondere Art, die sich von *Septoria littorea* Sacc. durch die Länge ihrer Sporen unterscheidet und von ihm 1933 als *Septoria apocyni* Chochr. beschrieben wurde. Der Schaden, den diese Art dem Kendyr verursacht, ist sehr beträchtlich, und deswegen ist es äußerst wichtig, ihren Zusammenhang mit *Septoria littorea* festzustellen, um speziell die Geschichte dieser Krankheit auf den Stengeln zu klären. Auf den Blättern wurde ihr Auftreten bereits seit den 80er Jahren verzeichnet, während sie auf den Stengeln erst 1931 registriert wurde. Bei der Untersuchung der Entwicklung der Pilze in der Kultur wurde festgestellt, daß sich *Septoria littorea* ebenso wie *Septoria apocyni* auf den abgestorbenen Stengeln des Kendyrs entwickelt<sup>1)</sup>. Außerdem war der Charakter der Entwicklung einsporiger Kulturen bei beiden *Septoria*-Arten auf Nährboden äußerst ähnlich (auf Kendyretrakt, auf Malzagar, auf Agar mit Glukose und Eiweiß). In beiden Fällen bildete sich ein hellbraunes Mycel, das in seinem eingebetteten Teil schwarz erschien. Auf ihm bildeten sich am siebenten bis zehnten Tag Pykniden. Ihr Durchmesser wies bei gleichen Entwicklungsbedingungen keine besonderen Verschiedenheiten auf; bei beiden *Septoria*-Arten betrug er etwa 150  $\mu$ . Dies alles veranlaßte uns, zu vermuten, ob nicht vielleicht beide Septorien des Kendyrs ein und dieselbe Art darstellen, die entsprechend ihrer Entwicklung auf verschiedenen Organen des Kendyrs nur ein wenig ihre Morphologie ändern, und zwar *Septoria littorea* auf den Blättern, *Septoria apocyni* auf den Stengeln des Kendyrs.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Feststellung der Ähnlichkeit oder Differenz ihrer Entwicklung, bzw. der Länge ihrer Sporen bei verschiedenem Aciditätsgrad. Eine Reihe von Verfassern: MacInnes (10), Schaffnit (15), Liesau (9), Palmiter (12), Small (16)

<sup>1)</sup> Siehe den Artikel von Gitman und Nikolajewa (7) in der Zeitschrift „Sa Nowoje Wolokno“, Nr. 3, 1935, Moskau.

u. a. haben die Differenz in der Entwicklung der Pilze bei verschiedenem pH festgestellt. Für eine Anzahl *Septoria*-Arten wurde ihre Abhängigkeit vom pH von Weber (18), Cochran (3), Sprague (17) ermittelt. Die Septorien des Getreides zeigten die beste Entwicklung auf mäßig sauren Nährböden mit einem Optimum gegen pH 6 (Weber, Sprague), während sich die *Septoria* des Selleries besser auf alkalischen Nährböden entwickelt.

Die starke Einwirkung des pH auf die Entwicklung ermöglicht, das Verhalten beider *Septoria*-arten bei ihrer Kultivierung auf einer Serie von verschiedenem pH zu verfolgen. Das vergleichende Studium von *Septoria littorea* und *Septoria apocyni* erfolgte in der Richtung der Feststellung der Grenzen der H-Ionenkonzentration, innerhalb deren die Ent-

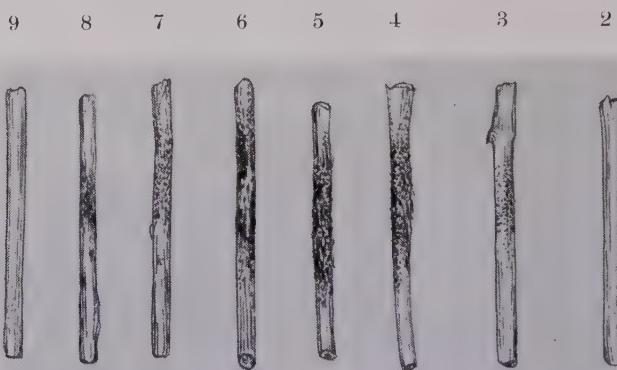


Abb. 2.  
Entwicklungsbild von *Septoria apocyni*  
auf abgestorbenen, mit Lösungen von verschiedenem pH durchtränkten Stengeln.

wicklung vor sich geht, sowie der Bedingungen der optimalen und minimalen Entwicklung, der Bildung der Sporen, ihrer Keimung und des Charakters der Infizierung des Kendyrs mit denselben.

### Die Entwicklung der Septorien auf dem abgestorbenen Stengel des Kendyrs.

Es wurden Pufferlösungen hergestellt zwecks Aufstellung einer pH-Serie von eins bis zehn. Für das pH von fünf bis acht gebrauchte man den Phosphatpuffer Sörensen's, der durch das Vermischen von  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  hergestellt wurde, für die extremen Alkali-Puffer den Ringer-Puffer:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{NaOH}$ , für die extremen sauren:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  und  $\text{HCl}$ . Das pH der Lösungen wurde kolorimetrisch mittels des Universalindikators bestimmt und sodann durch die elektrometrische Bestimmung mit dem Potenzmeter „Agronom“ genau festgestellt.

In Reagenzröhren mit Stückchen des Kendyrstengels wurden je  $4 \text{ cm}^3$  der Lösungen eingegossen. Die ganze Serie der Reagenzröhren wurde in

einem Autoklaven sterilisiert, nach der Sterilisierung fand die Bestimmung des pH in den Kontrollreagenzröhren statt. Danach wurden die Stückchen des Stengels mit *Septoria littorea* und *Septoria apocyni* aus Einspor-Kulturen von gleichem Alter infiziert.

Danach wurde der Entwicklungsprozeß beider Septorien beobachtet. Nach Verlauf von 30 Tagen wurde das Experiment für gewöhnlich abgeschlossen, und es wurde der Durchmesser des unter der Einwirkung des Pilzes gebildeten Fleckes sowie der Sporen in den Pykniden in den Fällen, wo sie sich entwickelten, abgemessen.

Am schnellsten und üppigsten fand die Entwicklung bei pH 5—6 statt (Abb. 2 und 3). Unter dem üppigen, lichten Luftmycel bildeten sich



Abb. 3.  
Entwicklungsbild von *Septoria littorea*  
auf abgestorbenen, mit Lösungen von verschiedenem pH durchtränkten Stengeln.

in großer Anzahl Pykniden. Bei pH 3—4 entwickelte sich ausschließlich Luftmycel, die Bildung der Flecken beschränkte sich auf ein leichtes Grauwerden des Stengels, das durch die Menge der Punkte der größten Teils unreifen Pykniden verursacht wurde. Unter pH 3 wurde keine Entwicklung der Pilze am Stengel beobachtet. An der Stelle der Auftragung des Pilzes bildete sich auch bei pH 2 ein Bündel von Lufthyphen. Am Neutralpunkt ging die Entwicklung im Vergleich zu dem schwach sauren pH 5—6 schlechter vor sich, es bildete sich fast kein Luftmycel; die schwarzen Flecken auf dem Stengel waren von geringerem Umfang, Pykniden bildeten sich auf ihnen in geringerer Anzahl. Bei pH 8 beschränkte sich die Entwicklung auf ein kleines schwarzes Fleckchen um die Infektionsstelle mit einigen Pykniden. Bei pH 9 blieb der Stengel wie auch bei pH 2 steril.

Innerhalb der erwähnten Grenzen waren bei einer Ähnlichkeit im allgemeinen Bilde bereits Differenzen in der Entwicklung der beiden *Septoria*-Arten angedeutet. Die Flecken von *littorea* waren in allen Fällen

ein wenig heller. Außerdem erfolgte die üppigste Entwicklung der letzteren auf einem mehr sauren Boden mit einem Optimum bei pH 5, während für *apocyni* pH 6 als optimal erscheint. Dementsprechend ist *Septoria littorea* der Erhöhung des Alkaligehaltes gegenüber empfindlicher, indem sie sich bei pH 7 und darüber entweder normal oder überhaupt nicht weiterentwickelt (Abb. 3).

Die Bildung von Pykniden schwankt bei beiden Septorien innerhalb pH 4 und 8. Jedoch

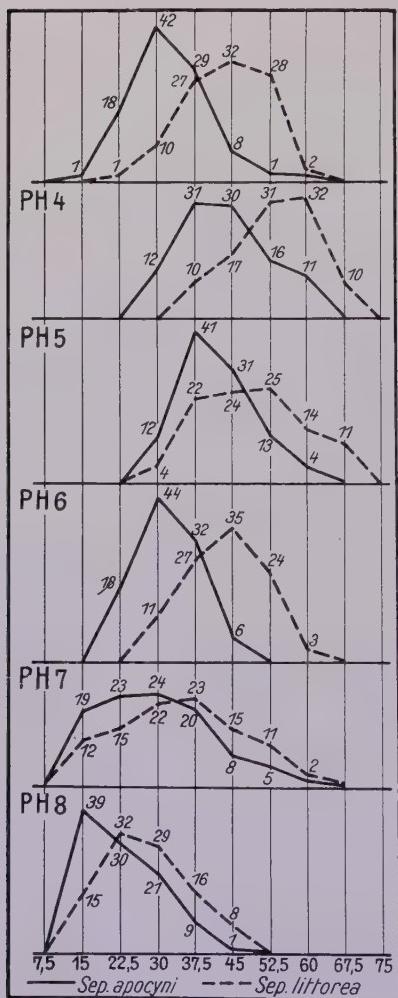


Abb. 4.

Anzahl der Sporen verschiedener Dimensionen auf dem abgestorbenen Stengel.

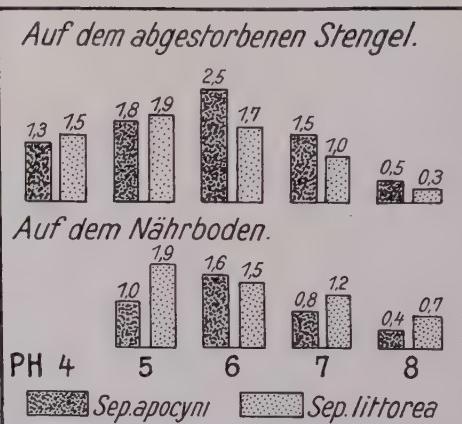


Abb. 5.  
Durchmesser der Kolonie  
bei verschiedenem pH.

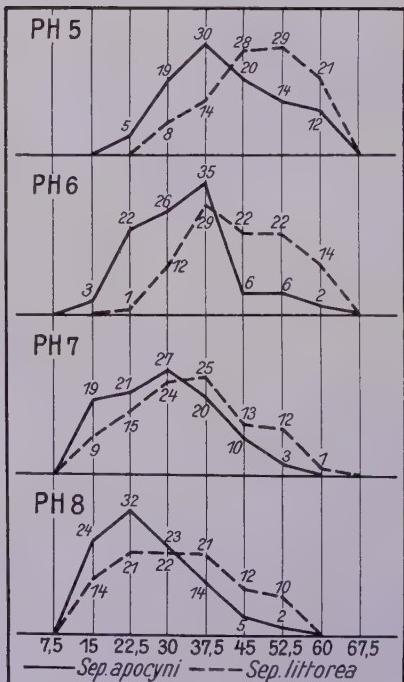


Abb. 6.

Anzahl der Sporen verschiedener Dimensionen in Kulturen.

ist bei den extremen pH, einerseits 4 und andererseits 7—8, die Anzahl der reifen Pykniden mit Sporen unbedeutend. In letzteren Fällen bedient man sich zur Herausbeförderung der Sporen des Zeiß'schen Mikromanipulators.

Die Messung der Sporen beider *Septoria*-Arten ergab eine Differenz in ihrer Länge. Es wurden von jeder *Septoria*-Art je 100 Sporen bei pH 4,5, 6, 7 und 8 abgemessen. Die Ergebnisse der ausgeführten Abmessungen, die graphisch auf Abb. 4 dargestellt sind, zeigen die Ver-

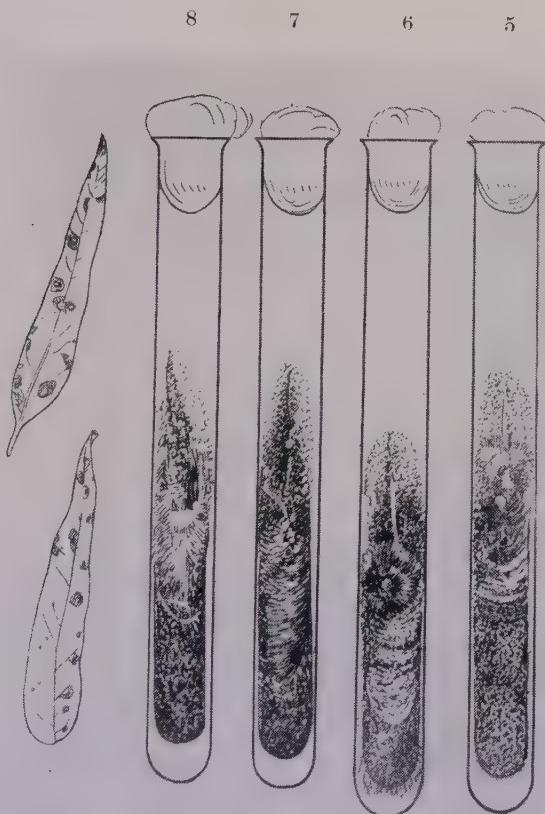


Abb. 7.

Entwicklungsbild von *Septoria littorea* auf Kendyrestrakt-Agar von verschiedenem pH.

änderung der Durchschnittslänge der Sporen beider Arten an abgestorbenen Stengeln bei verschiedenem pH, wobei sich in beiden Fällen die längsten Sporen unter den Bedingungen eines maximalen Aziditätsgrades bildeten. Trotzdem bleibt in der ganzen pH-Serie eine gewisse Differenz zwischen *Septoria littorea* und *Septoria apocyni* in bezug auf die Länge ihrer Sporen erhalten. Eine Kontrollmessung der Sporen an einem künstlich infizierten

lebenden Kendyrexemplar ergab im Mittel für *Septoria apocyni* 32  $\mu$  und für *Septoria littorea* 52  $\mu$ .

Bei einer Kreuzinfizierung der Stengel mit *Septoria littorea* und der Blätter mit *Septoria apocyni* erhielten wir im ersten Falle Sporen von 44  $\mu$  und im zweiten von 43  $\mu$  Länge. Somit erweist sich, daß *Septoria littorea* bei der Entwicklung auf dem Stengel kürzere Sporen bildet, während *Septoria apocyni* auf den Blättern längere Sporen entwickelt.

Eine derartige Differenz zweier Formen, die ihrem Wesen nach auf einer biometrischen Verschiedenheit beruht, bildet nach Ciferri (2) besondere Unterarten von Pilzen. Ist dies der Fall, so erscheint *Septoria apocyni* nicht als selbständige Art, sondern als Unterart von *Septoria littorea*, die sich zu einer späteren Zeit vorwiegend auf den Stengeln des Kendyrs spezialisiert hat.

### Die Entwicklung beider *Septoria*-Arten auf Kendyrestrakt-Agar.

Der Stengel des Kendyrs wurde in kleine Stücke geschnitten und in Lösungen von verschiedenem Puffer abgekocht. Sodann wurden die Extrakte filtriert, es wurde ihr pH bestimmt, und im Falle einer Verschiebung wurde ein entsprechendes Phosphat hinzugefügt. Die Lösungen wurden agarisiert, in Reagenzröhren gegossen und im Autoklaven sterilisiert. Die Infizierung mit *Septoria littorea* und *Septoria apocyni* erfolgte wie bei den abgestorbenen Stengeln aus gleichaltrigen Einspor-Kulturen. Das Anwachsen der Pilze wurde bei pH 5—8 beobachtet. Bei stärker saurem pH erstarrte der Agar nicht (Abb. 5.) Der allgemeine Charakter der Entwicklung war dem am abgestorbenen Stengel gleich. Wie beim letzteren ließ sich eine optimale Entwicklung bei pH 5—6 beobachten. Jedoch entfaltete sich *Septoria littorea* im Gegensatz zum Wachstum auf abgestorbenem Stengel auf Nährböden besser als *Septoria apocyni* (Abb. 5, 7 und 8). Das Luftmycel entwickelte sich gleichfalls ausschließlich bei saurem pH.

Die Abmessung der Sporen bei pH 5—6—7—8 ergab Längen, die sich denjenigen beim abgestorbenen Stengel bei entsprechendem pH stark näherten (Abb. 6).

Obgleich die Länge der Sporen mit der Zunahme des Aziditätsgrades zunimmt, erscheinen die Sporen, die sich bei stärkerem saurem pH als dem optimalen bilden, in der Mehrzahl der Fälle gekrümmt, mit vakuolisiertem Inhalt; der Prozentsatz ihrer Auskeimung ist niedriger als der der „optimalen“ Sporen entsprechender Länge, die wir am lebenden Kendyr beobachten. Was jedoch eine gewisse Differenz in der Länge der Sporen bei *Septoria littorea* und *Septoria apocyni* betrifft, so bleibt sie in den Kulturen der vorliegenden Serie sowie bei der Entwicklung am abgestorbenen Stengel erhalten.

**Die Keimung der Sporen  
und die Infektion frischgeschnittener Kendyrstengel.**

Es wurden Sporen beider *Septoria*-Arten sowohl von lebendem Kendyr als auch aus reinen Kulturen auf ihre Keimung bei verschiedenem pH untersucht. Sie wurden in van Tieghem-Ringe in Tröpfchen von Pufferlösungen aufgetragen und sodann in den Thermostaten bei 22° C gestellt.

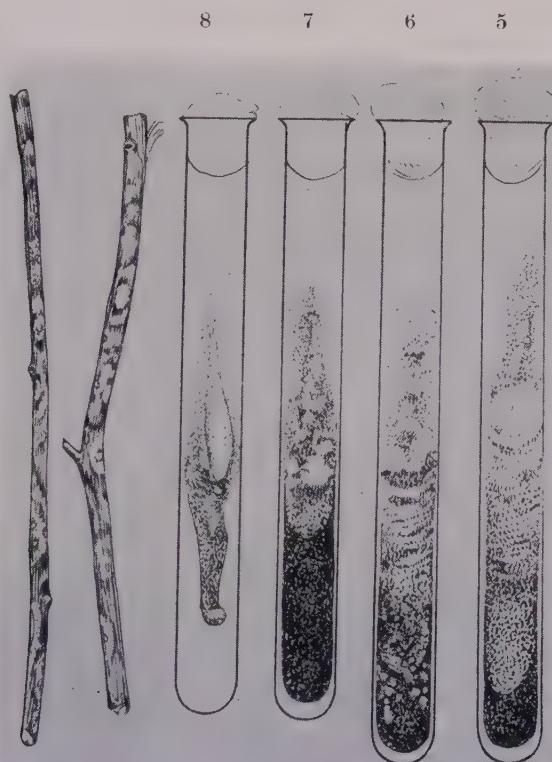


Abb. 8.

Entwicklungsbild von *Septoria apocyni* auf Kendyextrakt-Agar von verschiedenem pH.

Nach zwei Tagen wurde der Prozentsatz der ausgekeimten Sporen in zehn Gesichtsfeldern für jedes pH ermittelt (Siehe Abb. 9).

Bei diesen Keimungsversuchen ergab sich, daß die optimale Keimung beider Septorien bei pH 6 beobachtet wird (bei *Septoria littorea* 59%, bei *Septoria apocyni* 31—33%). Bei pH 4 und pH 8 erfolgt überhaupt keine Keimung: bei pH 5 und pH 7 findet wohl eine Keimung statt, jedoch zu bedeutend geringerem Prozentsatz als bei pH 6 (bei *Septoria littorea* 22—31 und 13—23%; bei *Septoria apocyni* 13—24 und 8—29%). Die abgeschnittenen Zweige des Kendyrs wurden mit den Sporen beider *Septoria*-Arten bei pH 3—9 infiziert. Die Puffer wurden auf die Infektions-

stelle aufgetragen, die Sporen in einem Tröpfchen der entsprechenden Pufferlösung. Bei pH 3—4 und 8—9 fand eine Infizierung des Kendyrs durch die Sporen nicht statt, während bei pH 6 sich Septoriose-Flecken bildeten.

Die anatomischen Schnitte durch die an demselben Tage infizierten Stengel ergaben eine Differenz in den Infektionsbildern beider Septoria-Arten. *Septoria apocyni* rief am zehnten Tage eine Bräunung und einen Zerfall der Gewebe sowie den Beginn einer Pyknidenbildung an der Grenze von Bast und Holz hervor, während *Septoria littorea* bloß in der Epidermis anliegenden Bastparenchymschicht Mycel entwickelte. Eine Bräunung der Gewebe sowie eine Bildung von Pykniden wurde hier nicht konstatiert.

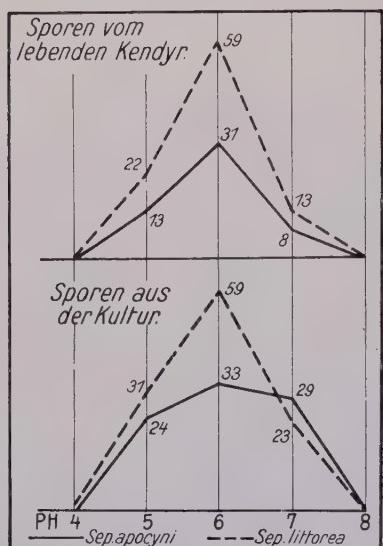


Abb. 9.

Prozentsatz der Sporenenkeimung bei verschiedenen pH-Werten.

Sporen von lebendem Kendyr.

Alles oben Dargelegte spricht für das Vorhandensein einer bestimmten Differenz zwischen den beiden Septorien des Kendyrs, die sich sowohl in der Länge ihrer Sporen als auch in dem anatomischen Bild des durch sie infizierten Kendyrs äußert. Allein diese Differenz erscheint jedoch nicht genügend, um *Septoria apocyni* Chochr. als selbständige Art abzusondern. Sie infizieren in der Tat beide sowohl den Stengel des Kendyrs als auch seine Blätter. Obzwar die Länge der Sporen bei den Durch-

schnittsangaben differiert, schwankt sie doch innerhalb ein und derselben Grenzen (siehe Abb. 4 und 7). Verschieden erscheinen bloß die Längen, denen die meisten Sporen der entsprechenden Form angehören. Die äußere Beschaffenheit der Kolonien auf Agar sowie auf den Stengeln des Kendyrs weist keine Differenzen auf. Und selbst die Differenz in der Länge der Sporen bei der Entwicklung in optimalen Bedingungen — auf dem lebenden Kendyr oder in den Kulturen bei saurem pH — verschwindet bei der Kultivierung der Pilze auf neutralen Nährböden. Auf Grund des Dargelegten wäre es somit keineswegs richtig, *Septoria apocyni* Chochr. als selbständige Art zu betrachten. Der Wirklichkeit mehr entsprechend wäre folgende Bezeichnung: *Septoria littorea* Sacc. f. *apocyni* Chochr. Außer dem diagnostischen Schluß ergeben sich aus vorliegender Arbeit noch die Aziditätsgrenzen, in denen eine Entwicklung von *Septoria littorea* beobachtet wird; es sind dies: pH 4—8 und für die Keimung der Sporen: pH 5—7. Diese Grenzen erscheinen ziemlich eng, und die Infizierung des Kendyrs erfolgt fast ausschließlich bei zirka pH 6.

### Literaturverzeichnis.

- 1 Beach, W. S. Biologic specialization in the genus *Septoria*. 1919. American Journal of Botany, 6.
- 2 Ciferri, R. The criteria for definition of species in mycology. 1932. Annales Mycologici, 30.
- 3 Cochran, L. C. A study of two *Septoria* leaf-spots of celery. 1932.
- 4 Tranzhel, Gutner und Chochrjakow, M. Werke des Instituts für Neuen Rohbast. Bd. IV. 1933.
- 5 Diedicke, W. Die Gattung *Septoria*. 1912. Annales Mycologici, 10.
- 6 Garman, P. and Stevens, F. L. The genus *Septoria* presented in tabulation with discussion. 1920. Transaction of the Illinois State Academy of Science, 13.
- 7 Gitman, L. und Nikolajewa, A. Materialien zur Biologie der Kendyr-*Septoria*. In Druck. (Russisch.)
- 8 Laibach, F. Untersuchungen über einige *Septoria*-Arten und ihre höheren Fruchtformen. 1921. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 31.
- 9 Liesau, O. F. Zur Biologie von *Didymella lycopersici*. 1932. Phytopathologische Zeitschrift, S. 1.
- 10 Mac-Innes, J. The growth of the wheat scab organism in relation to hydrogen-ion concentration. 1922. Phytopathology, 12.
- 11 Norton, J. B. S., Pritchard, F. J. and Porte, W. S. Relations of *Septoria lycopersici*. 1921. Journ. of Agricultural Res., XXI, pp. 501—506.
- 12 Palmiter, D. N. Variability in monoconidial cultures of *Venturia inaequalis*. 1934. Phytopathology, 24.
- 13 Potebnia, A. Beiträge zur Micromycetenflora Mittelrußlands. 1910. Annales Mycologici, 8.
- 14 Saccardo. Sylloge fungorum III. 1883.
- 15 Schaffnit, E. und Meyer, H. K. Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. 1930. Phytopathologische Zeitschrift, S. 99—166.
- 16 Small. Hydrogen-ion concentration in plant cells and tissues. 1929. Protoplasma-Monographien, 2.
- 17 Sprague, R. A physiologic form of *Septoria tritici* on oats. 1934. Phytopathology, 24.
- 18 Weber, G. F. *Septoria*-diseases of cereals. I—II—III. 1922—1923. Phytopathology, 12—13.



Aus der Bundesanstalt für Pflanzenschutz, Wien.

---

Eine neue Blattfleckenkrankheit des Apfels  
(*Phyllosticta angulata* n. sp.)

Von

Hans Wenzl.

Mit 2 Textabbildungen.

Im Gegensatz zur Birne hat der Apfel verhältnismäßig wenig unter Blattfleckenpilzen zu leiden. Von den vielen bisher bekannt gewordenen Blattfleckenkrankheiten des Apfels kommt keiner eine größere, sich praktisch auswirkende Bedeutung zu. So weit verbreitet auch diese Pilze sein mögen, die Schädigung der Blätter bzw. der Bäume ist nur gering. Die größte Bedeutung dürfte der nordamerikanischen *Phyllosticta solitaria* zukommen; der Schaden ist jedoch nicht in erster Linie durch den Blattbefall gegeben, sondern durch die Bildung von Krebswunden an den Zweigen und von Flecken auf den Früchten bedingt.

Eine Großzahl der Blattfleckenpilze auf Apfel gehört der Gattung *Phyllosticta* Pers. an. In Europa dürften *Phyllosticta mali* Prill. et Delacr. und *Phyllosticta briardi* Sacc. die am häufigsten vorkommenden Arten sein. Über die wichtige nordamerikanische *Phyllosticta solitaria* Ell. et Ev. liegt aus Europa bisher nur eine Angabe über das Vorkommen in Holland vor (Van Poeteren, Rev. appl. Myc. 8. 547, 1929).

Für alle bisher bekannt gewordenen, durch *Phyllosticta*-Arten hervorgerufenen Blattfleckenkrankheiten des Apfels ist eine rundliche oder „unregelmäßige“ Form der Flecken charakteristisch; ausgeprägt eckige Blattflecken wurden bisher auf Apfel nicht beobachtet.

Im August 1935 fand ich in drei verschiedenen Baumschulen Niederösterreichs an einer Anzahl von Apfelsorten eine Blattfleckenkrankheit, die durch kleine, eckige, von den feinsten Nervenverzweigungen begrenzte Flecken auffiel. Die Untersuchung der zahlreich vorhandenen Pykniden ergab die Zugehörigkeit zur Gattung *Phyllosticta* Pers.

Das Auftreten dieser Blattfleckenkrankheit war in jeder der drei Baumschulen nur auf einen verhältnismäßig sehr kleinen Teil der Apfelbestände beschränkt — je 20 bis 50 m<sup>2</sup> —, was vielleicht als Hinweis darauf angesehen werden kann, daß dieser Pilz noch nicht lange vorhanden, vielleicht sogar erst 1935 zum ersten Mal aufgetreten ist. Die befallenen

Bäume waren drei- bis vierjährig. Die Stärke des Befalles der einzelnen Blätter war sehr verschieden. Ob die Infektion von einer gemeinsamen Quelle ausging, ist unbestimmt, ein direkter Austausch von Pflanzenmaterial hat in den letzten Jahren zwischen den drei Baumschulen nicht stattgefunden.

Zwei von diesen Baumschulen liegen im Wienerwaldgebiet und eine im Alpenvorland, also durchwegs in den feuchteren Gebieten Niederösterreichs. In einer Reihe von Baumschulen der trockeneren Gebiete



Abb. 1.

*Phyllosticta angulata*. Blattflecken auf Apfelblättern.  
Etwas verkleinert.

dieses Landes, die im Sommer 1935 besichtigt werden konnten, war diese Blattfleckenkrankheit nicht festzustellen. Nach dem geringen Beobachtungsmaterial ist jedoch vorerst selbstverständlich nicht einmal mit Wahrscheinlichkeit zu sagen, daß der Pilz auf die feuchteren Gebiete beschränkt ist.

An der Identität dieser Blattfleckenkrankheit aus den drei verschiedenen Baumschulen ist nicht zu zweifeln: Sowohl das äußere Krankheitsbild, wie auch das mikroskopische Aussehen der Pykniden und Sporen ist völlig gleichartig. Die Form der Flecken ist nicht nur auf den Blättern der verschiedenen Sorten von Eßäpfeln, sondern auch auf dem Azarolapfel äußerst ähnlich. Wie Abb. 2 zeigt, sind die deutlich eckigen Blattflecken von den feinsten Nervenverzweigungen begrenzt. Durch Befall mehrerer nebeneinander liegender Interkostalfelder entstehen mitunter größere Flecken, deren eckiger Umriß nicht mehr so deutlich in

Erscheinung tritt wie bei den kleinen Flecken, die jedoch stets auch von feinsten Verzweigungen der Blattnerven begrenzt sind. Die Größe der einzelnen Flecke entspricht stets der Größe der winzigen Interkostalfelder, die von feinsten anastomosierenden Nervenverzweigungen gebildet werden: da die Größe der Interkostalfelder jedoch von der Blattgröße bzw. von der Sorte abhängt, zeigen sich auch bei den verschiedenen Sorten gewisse Unterschiede im Ausmaße der Flecken. Im allgemeinen haben diese Blattflecken, die je einem Interkostalfeld entsprechen, einen Durchmesser von 0,5 bis 1 mm; durch Befall mehrerer benachbarter Interkostalfelder entstehen vielfach auch abgestorbene Partien von einem halben Zentimeter Durchmesser und darüber.

Die Flecken treten stets auch an der Unterseite der Blätter in Erscheinung, in der Regel jedoch nicht so deutlich und so scharf begrenzt wie an der Oberseite.

Während die durch den Pilzbefall abgestorbenen Flecken an der Unterseite, vom Alter ziemlich unabhängig, ein kräftiges Braun — oft mit einem rötlichen Strich — zeigen, ist die Färbung an der Oberseite weitgehend vom Entwicklungszustand der Flecken abhängig. Während die ältesten — meist an den reifen Pykniden kenntlichen — Blattflecken eine helle ockerfarbige oder weißlich-graue Färbung zeigen, sind die jüngeren Blattflecken kräftiger braun gefärbt, und wieder andere zweifellos erst vor kurzem infizierte Interkostalfelder mit noch lebendem Gewebe haben eine hellgrüne oder gelblichgrüne Farbe. Besonders im durchfallenden Licht weisen Blätter mit Blattflecken in sehr verschiedenen Entwicklungsstadien eine auffallende Sprenkelung auf, einem zierlichen Mosaik vergleichbar. Das schon mit freiem Auge erkennbare Krankheitsbild ist also überaus charakteristisch.

Eine Ränderung der Blattflecken ist — abgesehen vom Azarolapfel — auf der Unterseite der Blätter niemals, auf der Oberseite nur ganz vereinzelt und andeutungsweise festzustellen: meist geht die Farbe des vertrockneten Interkostalfeldes unvermittelt in das Grün des gesunden Blattes über. Nur ganz vereinzelt ist über den die Flecken begrenzenden Nerven



Abb. 2.  
*Phyllosticta angulata*.  
 Blattflecken auf Apfelblatt.  
 Die vereinzelten schwarzen Punkte auf den  
 hellen Blattflecken sind Pykniden.  
 Dreieinhalfmal vergrößert.

ein feiner dunklerer Saum vorhanden. Auf den Blättern des Azarolapfels zeigt sich jedoch mit großer Regelmäßigkeit an der Grenze der befallenen Interkostalfelder gegen das gesunde Gewebe ein erhabener dunkelrot gefärbter Rand und in der näheren Umgebung der beiderseits tiefbraun gefärbten Flecken ist gleichfalls starke Anthozyanbildung bemerkbar; die betreffenden Azaroläpfel neigten eben im Gegensatz zu den befallenen Sorten von Eßäpfeln zur Anthozyanbildung, was sich auch in der unterseitigen Rotfärbung der Blattnerven andeutet.

Die Pykniden treten als schwarze punktförmige Erhebungen ausschließlich an der Oberseite der Blätter in Erscheinung. Ihre Größe — in der Aufsicht des Blattes bestimmt — schwankt in weiten Grenzen: Im Durchschnitt haben sie einen Durchmesser von 80 bis 130  $\mu$ , mitunter sind sie aber bis 150  $\mu$  groß. Das rundliche Ostiolum hat einen Durchmesser von 13—17  $\mu$ . In der Regel findet sich in jedem Interkostalfeld eine einzige Pyknide; nur ganz selten sind es zwei. Auf größeren, aus einer Gruppe von Interkostalfeldern bestehenden Flecken kommen jedoch vielfach mehrere Pykniden vor. Die — nur oberseits deutlich ausgebildete — Pyknidenwand besteht aus relativ großen, rauchbraun gefärbten Zellen.

Die elliptischen, völlig hyalinen Sporen zeigen sehr gleichmäßige Form- und Größenverhältnisse, unabhängig von der Herkunft des Blattmaterials. Die überwiegende Mehrzahl der Sporen hat eine Länge von etwas über sechs und eine Dicke von knapp über 3  $\mu$ . Das Länge-Breitenverhältnis ist also meist annähernd 2:1; Sporen, die kürzer sind, als der doppelten Dicke entspricht, sind häufiger als solche, die länger sind. Die durchschnittlichen Abmessungen sind 5,5—6,5  $\times$  2,7—3,4  $\mu$ . Die Messungen beziehen sich durchwegs auf in Wasser liegende Sporen.

Von allen bisher von Apfelblättern bekannt gewordenen *Phyllosticta*-Arten unterscheidet sich die vorliegende Art nicht nur durch die überaus charakteristische eckige Form der Flecken, sondern auch durch Größe und Form der Sporen; bei einzelnen Arten haben auch Pykniden und Ostiolum ganz andere Masse.

Im folgenden seien die vom Apfel bisher bekannt gewordenen *Phyllosticta*-Arten zusammengestellt und auch die Sporengrößen angegeben, sowie andere Merkmale, die den Unterschied gegenüber der neuen *Phyllosticta* zeigen: (Größen in  $\mu$ ):

*Phyllosticta briardi* Sacc. Sporen: 4—5  $\times$  1—2.

*Phyllosticta briardi* var. *cincta* Sacc. Sporen: 4,5—5  $\times$  2,5; Pykniden nur 60—80 groß.

*Phyllosticta clypeata* Ell. et Ev. Sporen: 3,5—4  $\times$  2,5—3; Flecken 0,5—1 cm groß.

*Phyllosticta limitata* Peck. Sporen: 7—8  $\times$  4; sehr große runde Flecken.

*Phyllosticta malii* var. *comensis* Trav. Sporen: 7—8  $\times$  2,5.

*Phyllosticta pirina* Sacc. Sporen: 4—5  $\times$  2,5—3; rundliche silbergraue Flecken.

*Phyllosticta prunicola* (Op.) Sacc. Sporen: 4—6  $\times$  2,5—3; nach Voglino (Rev. appl. Myc. 9, 532) runde Flecken.

*Phyllosticta solitaria* Ell. et Ev. Sporen auf den Blättern: 7—11  $\times$  6—8,5; für diese Art ist auch Befall des Blattstiels und der Hauptnerven charakteristisch.

In der Sporengroße steht *Phyllosticta prunicola* der neuen *Phyllosticta* noch am nächsten; sowohl auf Steinobst wie auch auf Apfel sind jedoch die Blattflecken dieser Art rundlich; durch das häufige Auftreten von zwei Öltropfen in den Sporen von *Phyllosticta prunicola* ist ein weiterer eindeutiger Unterschied gegeben. Die Sporen von *Phyllosticta limitata*, *Phyllosticta mali* und *Phyllosticta solitaria* sind größer als die des neuen Apfpilzes, die Sporen von *Phyllosticta briardi*, *Phyllosticta briardi* var. *cincta* und *Phyllosticta clypeata* sind deutlich kleiner, die von *Phyllosticta mali* var. *comensis* weichen mit ihrer langgestreckten Form von allen anderen Arten auffallend ab.

Auch die von der Birne bekannten *Phyllosticta*-Arten (*Phyllosticta pirorum* Cooke, *Phyllosticta phytophthorum* Bubák, *Phyllosticta piricola* Sacc. et Speg. und *Phyllosticta piriseda* Pass.) kommen wegen der durchwegs abweichenden Form der Flecken und der geringeren Sporengroße als Erreger der beschriebenen Blattfleckenkrankheit auf Apfel nicht in Betracht.

Der Vergleich erstreckte sich weiter auch auf alle von Pomoideen und Prunoideen (nach Saccardo Syll. fung.) bekannten *Phyllosticta*-Arten, die eckige Blattflecken hervorrufen: *Phyllosticta albo-maculans* Kabát und Bubák, *Phyllosticta congesta* Heald und Wolf, *Phyllosticta cydonicola* Allescher, *Phyllosticta griseo-fusca* Bubák, *Phyllosticta michailowskoensis*, Elenk et Ohl, *Phyllosticta paupercula* Peck., *Phyllosticta prunicola* var. *pruni avium* Jaap und *Phyllosticta rubra* Peck. Sporengrößen und Sporenform sind jedoch von der beschriebenen *Phyllosticta* verschieden. Noch die größte Ähnlichkeit mit dem Apfpilz besitzt die aus Amerika von Amelanchier bekannte *Phyllosticta paupercula*, doch ist die Form der Sporen ( $4-6 \times 3-3,5 \mu$ ) deutlich gedrungener und kürzer als bei dem Apfpilz; zudem sollen die Flecken an der Unterseite der Amelanchierblätter kaum sichtbar sein.

Aus allen Vergleichen ergibt sich somit, daß diese auf Apfelblättern typische eckige Flecken hervorrufende *Phyllosticta* eine neue Art ist, die im Hinblick auf die charakteristischen Blattflecken ***Phyllosticta angulata n. sp.*** genannt sei.

**Diagnose:** Eckige, von den feinsten Nervenverzweigungen begrenzte Blattflecken (0,5—1 mm groß), oft zusammenfließend, ober- und unterseits sichtbar, meist nicht gerandet, verschieden gefärbt, im ausgebildeten Zustand gelblichbraun. Pykniden nur an der Oberseite, meist 80—130  $\mu$  Durchmesser; rundliches Ostium (13—17  $\mu$  Durchmesser); Sporen stets einzellig, hyalin, elliptisch, meist  $5,5-6,5 \times 2,7-3,4 \mu$ .

Auch Herr Dr. H. Sydow, Berlin, dem ich Material übersandte, bestätigte mir dankenswerter Weise, daß es sich um eine neue, mit keiner ihm bekannten *Phyllosticta* (oder *Phyllostictina*) identifizierbare Art handelt.

Nur auf zwei (unter vielen) Blättern fanden sich auf den typischen eckigen Flecken neben den *Phyllosticta*-Pykniden ziemlich zahlreiche

Peritheien mit mehrfach unterteilten, länglichen Ascosporen. Nachdem das vereinzelte Vorkommen aber keinen bestimmten Anhaltspunkt gibt, daß es sich hierbei um die Hauptfruchtform der *Phyllosticta* handelt, sei nicht weiter darauf eingegangen.

Zur Vermeidung jeglicher Mißverständnisse sei ausdrücklich betont, daß die Gattung *Phyllosticta* im vorliegenden Fall im ursprünglichen sehr weiten Sinn verstanden wird (*Phyllosticta* Pers.), wie sie Saccardo (Syll. Fung.), Allescher in Rabenhorsts Kryptogamenflora, Abt. 6, Band 1, aber auch Laubert und Richter noch in der neuesten Aufgabe (1932) des Sorauerschen Handbuches auffassen: eine blattbewohnende Form mit einzelligen, hyalinen Sporen in Pykniden, die dünnwandig, kahl und nicht in besondere Hyphenlager eingebettet sind, ohne Konidienträger oder mit einfachen, oft sehr kurzen und auch vergänglichen Trägern.

Zur Frage der Aufteilung dieser umfangreichen und zweifellos auch sehr heterogenen Gattung *Phyllosticta* Pers. soll nicht Stellung genommen werden. Es sei nur folgendes ange deutet:

H. Sydow unterscheidet nach Pyknidenbau, Sporengröße und -inhalt, sowie vor allem nach der Entstehung der Sporen *Phyllostictina* von „typischer“ *Phyllosticta* (vergl. Petrik und H. Sydow 1927). „Typische“ *Phyllosticta* hat, um nur einen Unterschied anzuführen, kleinere Sporen als *Phyllostictina*; nach freundlicher brieflicher Mitteilung von Herrn Dr. H. Sydow bedeutet die Größe  $4-7 \times 2-3 \mu$  etwa die Grenze.

Hinsichtlich der Sporengröße steht der vorliegende Apfelpilz an der Grenze zwischen *Phyllostictina* Sydow 1927 und „typischer“ *Phyllosticta*. Das Fehlen von Öltropfen allein kann kaum genügen, den Pilz zu *Phyllostictina* zu stellen. Die Entscheidung liegt in der Entstehungsweise der Sporen, die aber an dem verhältnismäßig geringen Material aus der Vegetationsperiode 1935, das zudem schon zum größten Teil für andere Untersuchungen aufgebraucht war, nicht mehr klargestellt werden konnte. Herr Dr. H. Sydow, dem ich eine Reihe von Mitteilungen über die systematische Gliederung der in Frage stehenden Pilzformen verdanke, hat sich in entgegenkommender Weise bereit erklärt, die weitere Bearbeitung an neuem Material der Vegetationsperiode 1936 zu übernehmen.

Da jedoch eine diesbezügliche eingehende Untersuchung der meisten *Phyllosticta*-Arten, insbesondere auch der Formen auf Apfel noch völlig aussteht, ist es wohl durchaus berechtigt, den alten Gattungsbegriff (im angeführten weiten Sinn) zu verwenden und die Diagnose auf ihm aufzubauen, wobei ich mir selbstverständlich des vorläufigen Charakters einer solchen Einreichung bewußt bin. Die Eingliederung der neu beschriebenen Art ist ebenso vorläufig wie die der anderen bisher beschriebenen *Phyllosticta*-Arten und vieler anderer Gruppen der Fungi imperfecti; ihre Aufteilung bleibt zweifellos einer monographischen Bearbeitung überlassen, wobei es mir jedoch zweifelhaft erscheint, ob eine solche Arbeit,

die eine natürliche Gliederung nach phylogenetischen Gesichtspunkten zum Ziel haben muß, zu leisten ist, ehe wir über die Hauptfruchtformen, über die wir heute nur äußerst mangelhaft unterrichtet sind, mehr wissen.

Vorläufig genügt eine Einordnung nach den Grundsätzen eines Systems, wie es in Rabenhorsts Kryptogamenflora oder im Sorauerschen Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten niedergelegt ist.

Da in der Literatur widersprechende Auffassungen über die Gattung *Phyllostictina* Sydow vorhanden sind und ich an keiner Stelle einen klärenden Hinweis fand, sei auch darauf kurz eingegangen. Die Gattung *Phyllostictina* Sydow wurde 1916 in einer Arbeit von H. und P. Sydow und E. J. Butler an der Art *Phyllostictina murrayae* neu aufgestellt. Die Sporen sollten endogen aus den Zellen eines pseudoparenchymatischen Gewebes der Pykniden entstehen und durch Histolyse des Gewebes frei werden. In Saccardo (Syll. fung. Bd. 25) wurde noch 1931 diese Diagnose übernommen, auch sonst findet sie sich in der Literatur (Guba, 1924). Eine Gattung *Phyllostictina*, die durch endogen entstehende Sporen von vielen, sonst ähnlichen Filzen verschieden wäre, existiert jedoch nicht. Schon Höhnel (1920) nahm gegen die Angabe einer endogenen Sporententstehung bzw. einer Sporenenentstehung durch Histolyse bei dieser *Phyllostictina murrayae* Sydow Stellung. Die Untersuchungen von Petrak und H. Sydow (1927) haben dann gezeigt, daß eine Entstehung der Sporen durch Histolyse nicht vorliegt, auch nicht bei *Phyllostictina murrayae*, nach der die Gattung 1916 aufgestellt wurde. Eine Gattung *Phyllostictina* Sydow existiert in diesem Sinne nicht; *Phyllostictina* ist vielmehr unter anderem durch Sporen charakterisiert, die auf „untypischen, kurz stäbchenförmigen oder zylindrischen, bald verschrumpfenden oder verschleimenden Konidienträgern“ entstehen.

Die Unterscheidung von zwei *Phyllostictina*-Gruppen (Tehon und Daniels, 1927), von denen die eine der Sydowschen Gattung von 1916 entsprechen, die andere auf Konidienträgern entstehende Sporen besitzen soll (Unterschiede, die den Rahmen einer Gattung vollkommen sprengen würden!), ist daher hinfällig; es existiert nur die zweite Gruppe, die jene Formen umfaßt, die die beiden Forscher selbst untersucht haben. Auch die von Petrak und H. Sydow neu aufgestellten *Phyllostictina*-Arten gehören wohl zu dieser Gruppe.

### Zusammenfassung.

Es wird eine neue Blattfleckenkrankheit des Apfels beschrieben, die durch *Phyllosticta angulata* n. sp. verursacht wird und schon makroskopisch von den bisher bekannten Blattfleckenkrankheiten der Apfelblätter durch die charakteristische eckige Form der Flecken, sowie bei stärkerem Befall durch eine eigentümliche mosaikartige Blattverfärbung leicht zu unterscheiden ist.

### Schriftenverzeichnis.

- Guba, F. Phyllosticta leaf spot, fruit blotch and canker of the apple. Phytopathology **14** (1924), 234.
- Höhnel, F. Mykologische Fragmente. Annales mycologici **18** (1920), 93.
- Petrak, F. und Sydow, H. Die Gattungen der Pyrenomyceten, Sphaeropsideen und Melanconieen. 1. Teil. Fedde's Repertorium, Beihefte **42** (1927).
- Rabenhorsts Kryptogamenflora, VI. Abt., Bd. 1, Leipzig, 1901.
- Saccardo. Syll. fungorum, Bd. 1—25 (Bd. 25 1931).
- Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 3, 5. Auflage, 1932.
- Sydow, H. et P. et Butler, E. J. Fungi indiae orientalis. Annales mycologici **14** (1916), 177.
- Tehon, L. R. and Daniels, E. Y. Notes on the parasitic fungi of Illinois III. Mycologia **19** (1927), 110, nach Rev. Appl. Myc. **6**, 754.

# Versuche über das Wesen des Virus der Mosaikkrankheit des Tabaks und über einige andere Viruskrankheiten.

Von

H. Klebahn.

Mit 2 Textabbildungen.

## I. Das Virus des Tabakmosaiks bei Gegenwart starker Gifte wirksam.

Obgleich die sogenannten Viruskrankheiten zu den gegenwärtig am eifrigsten untersuchten Pflanzenkrankheiten gehören, ist das Wesen der als Virus bezeichneten Ursachen noch in Dunkel gehüllt, das zu weiterer Forschung anregt. Am meisten untersucht und auch am bequemsten zur Untersuchung geeignet ist das Virus der Mosaikkrankheit des Tabaks. Nur dürfen die Ergebnisse, die bei der Untersuchung dieses einen Virus gewonnen werden, nicht ohne weiteres auf die Virus der anderen Krankheiten übertragen werden, da die einzelnen Krankheiten und daher offenbar auch die Virus untereinander sehr verschieden sind. Dies zeigt sich außer in den Krankheitssymptomen besonders in der Verschiedenheit der Bedingungen, die für das Zustandekommen der Infektion nötig sind. Das Virus des Tabakmosaiks läßt sich aus den Pflanzen entnehmen und infiziert dann mit der größten Leichtigkeit und in starker Verdünnung; das Virus des *Abutilon Thompsoni* wirkt anscheinend nur, wenn wenigstens eine teilweise Verwachsung zwischen Träger und Impfling eingetreten ist und es von Zelle zu Zelle übertragen kann (Klebahn 1931, 24).

Nach früher von mir ausgeführten Versuchen möchte ich das Virus des Tabakmosaiks für eine leblose, den Enzymen ähnlich wirkende Substanz halten. Es läßt sich aus dem ultrafiltrierten Glyzerinextrakt mosaikkranker Tabakblätter mittels Alkohol, zwar nicht rein, aber zusammen mit anderen in Alkohol unlöslichen Stoffen, ausfällen, und sowohl das Extrakt wie der abfiltrierte Niederschlag vermögen gesunde Pflanzen mosaikkrank zu machen (Klebahn 1931, 2). Ich kann mir schwer vorstellen, daß lebende Wesen einer längere Zeit dauernden osmotischen Einwirkung konzentrierten Glyzerins und der Giftwirkung des Alkohols widerstehen können.

Allerdings muß ich zugeben, daß diese Versuche einen unanfechtbaren Beweis nicht geben. Es gibt Bakterien, die auf mit Kochsalz gesättigtem Nährboden am besten wachsen (Klebahn 1919, 50), und ich habe gelegentlich beobachtet, daß Käfer, die ich für durch Liegen in

Alkohol getötet hielt, nach einiger Zeit wieder auflebten. Auch leuchtet die Vermehrung eines Parasiten innerhalb einer von ihm befallenen Pflanze von vornherein weit mehr ein, als die Erzeugung und Vermehrung eines den Organismus schädigenden Giftes durch diesen selbst. Die Versuche von Olitzky (1924, 593), der eine Vermehrung des Virus in Nährösung außerhalb der Pflanze gefunden zu haben meinte, sind zwar von Mulvania (1925), Goldsworthy (1926), Purdy (1926) und Henderson Smith (1928) angefochten worden, da diesen Forschern die Wiederholung nicht gelang, aber der Fehler kann in diesem Falle ebensogut auf der einen wie auf der anderen Seite gelegen haben, und davon abgesehen sind positive Versuchsergebnisse beweiskräftiger als negative.

In neuester Zeit hat Bechhold (1934, a, 329) die Frage wieder aufgeworfen, ob die subvisiblen Krankheitserreger oder filtrierbaren Virus Fermente oder Lebewesen seien. Er hat auf verschiedenem Wege, insbesondere nach physikalischen Methoden die Größe der Teilchen einer Anzahl von Virusarten zu bestimmen gesucht und gefunden, daß „eine fast ununterbrochene Reihe besteht von der unteren Grenze der mikroskopisch sichtbaren und abbildbaren Mikroorganismen, den Bakterien, in der Größe von rund  $500\text{ m}\mu$ , bis herunter zu subvisiblen Gebilden von  $20\text{ m}\mu$ “ (1934, b, 76). Er gibt, um hier nur ein paar Beispiele zu nennen, als Teilchengröße für Pockenvakzine  $200\text{ m}\mu$  an, für die Bakteriophagen WL, D 20 und S 13 90 bzw. 50 und  $20\text{ m}\mu$  (siehe auch Bechhold und Schlesinger 1933, 631) und für das hier interessierende Virus des Tabakmosaiks, das Duggar (1926, S. 1234; siehe auch Duggar und Karrer 1927, 354) auf etwa 30 bis 35, ich selbst (Klebahn 1928, 84 und 94; 1931, 13) auf etwa  $40\text{ m}\mu$  geschätzt hatten,  $50\text{ m}\mu$ . Entgegen der früher von Miehe (1923) geäußerten Ansicht hält Bechhold (1934, b, 77) Lebewesen von  $20\text{ m}\mu$  Größe für durchaus denkbar und meint, wenn „ein Gebilde, das auf keinen Fall molekular verteilt ist, stets sich von einheitlicher Größe erweist“, daß es dann „kein Stoff“ sein kann, sondern „ein organisiertes Gebilde“ sein muß. Damit ist zwar nicht geradezu behauptet, daß die Virusteilchen lebende Wesen seien, aber der Gedanke, daß sie es sein könnten, doch wenigstens sehr nahe gelegt.

Ich hatte schon, ehe mir die Arbeit Bechholds bekannt wurde, Versuche begonnen, um aus der Wirkung von Giften auf Virus zu einem Urteil in der vorliegenden Frage zu gelangen. Gifte sind Stoffe, die, in genügender Menge und genügend lange einwirkend, lebende Organismen töten. Wenn also ein gegebenes Virus bei Gegenwart von Giften wirksam bleibt, so wird man geneigt sein, anzunehmen, daß es nicht aus lebenden Mikroorganismen besteht, sondern eine leblose wirksame Substanz, etwa ein Enzym oder dergleichen, ist.

Auch gegen diese Gedanken sind allerdings Einwände möglich. Es gibt Organismen, die gewisse Gifte, die für andere tödlich sind, ertragen,

und die rätselhaften Virusteilchen könnten in diesem Sinne überraschende Eigenschaften haben. Es genügt daher nicht, das Verhalten des Virus zu einem oder zwei Giften zu prüfen, sondern man muß möglichst viele und möglichst verschiedenartige Gifte heranziehen und sie auch längere Zeit auf das Virus einwirken lassen, bevor man den Erfolg durch Impfversuche prüft. Wenn sich dann ergibt, daß eine größere Zahl von Giften, die für Organismen anerkannt tödlich sind, die Virulenz des Virus nicht beeinflußt, so spricht das gegen die Organismennatur der Virusteilchen, und die Wahrscheinlichkeit dieser Folgerung steigt mit der Zahl der mit gleichem Erfolg geprüften Gifte. Umgekehrt beweisen Fälle, in denen nach Zusatz des Giftes die Virulenz schwindet, nicht, daß die Virusteilchen Lebewesen sind, denn das Virus kann durch das Gift chemisch oder physikalisch gebunden oder verändert und dadurch unwirksam geworden sein.

Eine Nebenaufgabe der Versuche war, zu sehen, ob es Gifte gebe, die, ohne die Virulenz des Virus aufzuheben, die Zersetzung nicht keimfrei filtrierter Lösungen eine Zeitlang zu verhüten vermögen. Derartige Gifte wären unter Umständen zur Vereinfachung der Versucharbeit geeignet.

Die für die Versuche erforderliche Viruslösung wurde, da Ultrafiltration nicht nötig und die Anwesenheit von Bakterien zur Kontrolle sogar erwünscht war, ganz einfach durch Zerquetschen mosaikkranker Blätter in einem Mörser, Auspressen des Saftes mittels einer Hobelbank wie bei meinen früheren Versuchen (Klebahnn 1928, 83) und Filtrieren durch etwas Watte gewonnen. Es war eine trübe grüne Flüssigkeit. Sie war, um das Filtrieren zu erleichtern, vorher mit etwa einem Viertel ihres Volums Wasser verdünnt worden. Kleine Portionen davon wurden auf Fläschchen verteilt und erhielten dann Zusätze der im folgenden näher bezeichneten verschiedenartigen Stoffe, die zum Teil schon in geringen Mengen tödliche Gifte sind, zum Teil die Lebensvorgänge zunächst hemmen und erst nach einiger Zeit völlig aufheben. Die Mischungen wurden, wo es nötig war, längere Zeit kräftig geschüttelt. Die Impfung fand erst am zweiten oder dritten Tage statt, damit die Gifte lange genug gewirkt hatten. Ich verwandte zur Raumersparnis junge Pflanzen und übertrug, um sichere Wirkung zu erreichen, reichliche Mengen Virus in Wunden an jungen Blättern und Stengeln.

Anfangs hatte ich, um Zeit zu gewinnen, auch während des Winters Versuche gemacht. Das langsame Wachsen während der kalten und dunklen Jahreszeit verzögert aber das Eintreten des Erfolges ganz erheblich, und die Gefahr unbeabsichtigter Infektion wird dadurch wesentlich erhöht. Ich habe daher später davon abgesehen.

Derartige Störungen scheinen durch die Mottenschildlaus, *Aleurodes vaporarium*, die ich schon früher erwähnt habe (Klebahnn 1931, 5), hervorgerufen werden zu können. Diese winzigen (2 bis 3 mm), wie kleine

weiße Schmetterlinge aussehenden Tierchen waren in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens oft in großen Mengen vorhanden. Sie sitzen saugend meist auf der Unterseite der Blätter, fliegen bei der geringsten Erschütterung auf und lassen sich dann auf anderen Blättern nieder. Ein paar Versuche, bei denen ich eine gesunde und eine mosaikkrank Tabakpflanze mit Mottenschildläusen zusammen unter derselben Glasglocke hielt, scheinen den Verdacht zu bestätigen, daß sie die Krankheit zu übertragen vermögen. Wiederholte Anwendung von „Cyanogas“ tötet sie und ihre Brut, aber unter den gegenwärtigen Zeitverhältnissen reichten die Mittel des Instituts nicht, um dieses etwas teure Mittel häufiger anzuwenden. Außerdem stellen sich die Tierchen trotzdem leicht wieder ein. Um Fehler zu vermeiden, mußte ich die Versuche mehrfach wiederholen und die geimpften Pflanzen unter besonders angefertigten Gazekästen kultivieren, Maßnahmen, welche zu einer starken Einschränkung der Versuche nötigten und mehr Zeit dafür in Anspruch nahmen, als sonst nötig gewesen wäre.

Ich hatte die Absicht, einige Versuche, deren Ergebnis noch unklar ist, zu wiederholen, neue mit anderen Giften anzuschließen und auch die Versuche von Olitzky (siehe oben) noch einmal nachzuprüfen, konnte aber aus den angedeuteten und verschiedenen anderen Gründen noch nicht die erforderliche Zeit finden. Ich teile daher die bisherigen Ergebnisse, die indessen schon etwas älteren Datums sind, jetzt mit und behalte mir vor, wenn es möglich wird, künftig noch darauf zurückzukommen.

#### Blausäure, HCN.

Bei Versuch 1 am 1. Juli 1933 ein Tropfen Blausäure (Chemisches Staatsinstitut) zu 20 ccm Virus hinzugefügt; für Versuch 2—4 am 8. August dieselbe Mischung neu bereitet.

1. Impfung, 3. Juli 1933 . . . . 4 Pflanzen, ++++ 22. Juli.
2. Impfung, 10. August 1933 . . . . 2 Pflanzen, ++ 24. August.
3. Impfung, 1. November 1933 . . . . 2 Pflanzen, -+ 30. Januar.
4. Impfung, 5. März 1934 . . . . 1 Pflanze, + 3. April.

#### Cyankalium, KCN.

Für Versuch 1 und 2 am 12. Mai 1934 0,5 ccm, für Versuch 3 am 25. Juni 1 ccm einer 5 %igen Cyankaliumlösung auf je 5 ccm Virus zugesetzt.

1. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . 2 Pflanzen, ++ 6. und 12. Juni.
2. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . 2 Pflanzen, ++ 12. Juli.
3. Impfung, 29. Juni 1934 . . . . 2 Pflanzen, ++ 24. Juli.

#### Silbernitrat, AgNO<sub>3</sub>.

Für die Versuche 1—3 wurden am 8. August 1933 in 20 ccm Virus 50 mg Silbernitrat gelöst. Für die Versuche 4 und 5 wurden am 12. Mai 1934 1 ccm und für Versuch 6 2 ccm einer 5 %igen Silbernitratlösung zu je 5 ccm Virus hinzugefügt.

1. Impfung, 10. August 1933 . . . . 2 Pflanzen, ++ 24. August.
2. Impfung, 1. November 1933 . . . . 2 Pflanzen, -+ 2. März.
3. Impfung, 5. März 1934 . . . . 1 Pflanze, + 27. März.
4. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . 2 Pflanzen, ++ 12. Juni.
5. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . 2 Pflanzen, ++ 12. Juli.
6. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . 2 Pflanzen, -+ 18. Juli.

**Quecksilberchlorid,  $HgCl_2$ .**

Für Versuch 1 wurde am 12. Mai und für Versuch 2 und 3 am 25. Juni zu je 5 ccm Virus je 0,5 ccm einer 5%igen Sublimatlösung zugesetzt.

1. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . . 2 Pflanzen, — —
2. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, — + 20. Juli.
3. Impfung, 29. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, — + 25. August.

**Natriumarsenit,  $NaAsO_2$ .**

Einige Kristalle, Menge nicht bestimmt, zu 20 ccm Virus. Die Versuchspflanzen wurden getötet oder stark geschädigt. Erfolg hatte nur ein Versuch.

1. Impfung, 10. August 1933 . . . . . 3 Pflanzen, — — —
2. Impfung, 4. November 1933 . . . . . 3 Pflanzen, — — + 31. Januar.

**Arsentrioxyd,  $As_2O_3$ .**

Für Versuch 1 wurde am 12. Mai und für Versuch 2 und 3 am 25. Juni zu je 5 ccm Virus je 0,5 ccm einer 2,5%igen Lösung von Arsentrioxyd zugesetzt. Die Versuchspflanzen wurden ziemlich stark geschädigt. Erfolg hatte nur ein Versuch.

3. Impfung, 29. Juli . . . . . 2 Pflanzen, — + 24. August.

**Kupfersulfat,  $CuSO_4$ .**

In 20 ccm Virus wurden am 8. August 1933 0,7 g Kupfervitriol aufgelöst. Die Lösung erwies sich als tödlich oder schädigend für die Versuchspflanzen, etwas weniger bei Verdünnung. Ein Versuch hatte späten Erfolg.

1. Impfung, 10. August 1933 . . . . . 2 Pflanzen, — —
2. Impfung, 1. November 1933 . . . . . 3 Pflanzen, — — + 3. April.

**Aether,  $(C_2H_5)_2O$ .**

Auf 5 ccm Virus wurde 1 ccm Aether zugesetzt und durchgeschüttelt, für Versuch 1 am 12. Mai, für Versuch 2 und 3 am 25. Juni.

1. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . . 2 Pflanzen, ++ 6. und 12. Juni.
2. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, ++ 12. Juli.
3. Impfung, 29. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, ++ 20. August.

**Chloroform,  $CHCl_3$ .**

Für Versuch 1 wurde am 2. Juli 1933 eine nicht gemessene reichliche Menge Chloroform dem Virus zugesetzt, für Versuch 2 bis 4 am 8. August 1933 eine 2%ige entsprechende Menge, für Versuch 5 bis 6 am 12. Mai 1934 1 ccm Chloroform auf 5 ccm Virus. Da Chloroform sich mit Wasser nicht mischt und untersinkt, wurde die Mischung wiederholt und längere Zeit geschüttelt.

1. Impfung, 3. Juli 1933 . . . . . 4 Pflanzen, + + + + 22. Juli.
2. Impfung, 10. August 1933 . . . . . 2 Pflanzen, + + 24. August.
3. Impfung, 1. November 1933 . . . . . 2 Pflanzen, — + 30. Januar 1934.
4. Impfung, 5. März 1934 . . . . . 1 Pflanze, + 4. Mai.
5. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . . 2 Pflanzen, + + 6. und 19. Juni.
6. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, — + + 12. Juli.

**Phenol,  $C_6H_5 \cdot OH$ .**

Ein Tropfen Phenol (liquefactum) wurde in etwas Alkohol gelöst und mit 5 ccm Virus durchgeschüttelt, für Versuch 1 am 12. Mai 1934, für Versuch 2 und 3 am 15. Juni 1934.

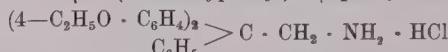
1. Impfung, 15. Mai 1934 . . . . . 2 Pflanzen, — —
2. Impfung, 27. Juni 1934 . . . . . 2 Pflanzen, + + 12. und 20. Juli.
3. Impfung, 29. Juli 1934 . . . . . 2 Pflanzen, + + 20. August.

### Formaldehyd, H·COH.

Der Zusatz von 1% Formaldehyd zum Virus schädigte bei der Impfung die Versuchspflanzen so stark, daß sie in der Regel abstarben, auch wenn die Mischung vorher stark verdünnt wurde. Von 14 Pflanzen erkrankten bei fünf Impfungen nur zwei, die anderen gingen ein, und diese zwei Fälle schienen außerdem unsicher zu sein. Man wird diese Versuche wiederholen müssen. Dabei müßte man noch stärkere Verdünnungen anwenden, oder man müßte versuchen, den Formaldehyd, nachdem er genügend lange auf das Virus eingewirkt hat, vor der Impfung dadurch unschädlich zu machen, daß man der Mischung die zur Umwandlung in Hexamethylentetramin erforderliche Menge Ammoniak zusetzte.

### P 21.

Unter der kurzen Bezeichnung P 21 übergab mir Herr Professor Dr. K. Kindler (Chemisches Universitäts-Institut) eine Substanz, die für gewisse niedere Organismen, z. B. für *Paramecium*-Arten, noch in 10 000-facher Verdünnung ein momentan tödliches Gift ist. Sie ist das Chlorhydrat des Di- $\beta$ -(4-aethoxyphenyl)- $\beta$ -phenylaethylamins, das der Formel



entspricht. Ich vermischt am 25. Juni 1934 5 ccm Virus mit 1 ccm einer 1%igen Lösung.

1. Impfung, 27. Juni 1934. . . . . 2 Pflanzen, ++ 13. Juli.

2. Impfung, 1. August 1934. . . . . 2 Pflanzen, ++ 20. August.

Im Anschluß an diese Versuche prüfte ich auch das Verhalten der Bakterien in den mit Giften versetzten Viruslösungen. Am 6. Juni 1934 machte ich mit jeder der vorhandenen Proben einen Ausstrich auf Fleischwasseragar in Petrischalen. Der Versuch ergab schon am folgenden Tage eine deutliche Bakterienentwicklung auf der ganzen Länge der Ausstriche, die mit Arsentrioxyd und mit der Substanz P 21 gemacht worden waren. Dagegen blieben die Ausstriche der mit Cyankalium, Silbernitrat, Quecksilberchlorid, Aether, Chloroform und Formaldehyd versetzten Proben bis zum 13. Juni bakterienfrei und auch pilzfrei. An diesem Tage begannen an dem Ausstrich des mit Cyankalium in doppelter Menge versetzten Virus eine einzige und des mit Cyankalium in einfacher und des mit Silbernitrat in doppelter Menge versetzten Virus ein paar Bakterienkolonien sich zu entwickeln. Im wesentlichen waren also durch die letztgenannten Gifte die Bakterien getötet, während das Virus mit Ausnahme des Versuchs mit Formaldehyd wirksam geblieben war. Wie jene späte Entwicklung einiger Bakterien zu erklären ist, muß ich unentschieden lassen. Zufällige Ansiedelung von Verunreinigungen gerade am Ort der Ausstriche ist nicht sehr wahrscheinlich. Vielleicht war das Gift an jenen Stellen inzwischen durch Diffusion im Agar so weit verdünnt worden, daß widerstandsfähigen Zellen oder Sporen kein Hindernis mehr entgegenstand. Eine Wiederholung auch dieser Versuche, die ich noch nicht vornehmen konnte, ist wünschenswert.

Die Versuche ergeben, daß durch Blausäure, Cyankalium, Silbernitrat, Aether und Chloroform die Wirksamkeit des Virus nicht aufgehoben wurde, während die Bakterien getötet waren. Das

spricht sehr dagegen, daß die Virusteilchen organisierte lebende Wesen seien. Vielleicht verhält sich Phenol ähnlich. Die Versuche mit den übrigen Stoffen müssen mit geeigneten Abänderungen wiederholt werden, namentlich wenn die Versuchspflanzen stark geschädigt wurden, neben positiven auch negative Ausschläge sich zeigten oder die positiven erst nach geraumer Zeit auftraten.

Im Zusammenhang mit den vorstehenden Untersuchungen interessiert auch die Frage, wie lange das von der Nährpflanze getrennte Virus seine Virulenz bewahrt. Wenn es eine leblose Substanz ist, so kann die Dauer der Virulenz eine lange, wenn auch keine unbegrenzte sein, da ja, wie z. B. bei Diastase, nach längerem Aufbewahren ein Sinken der Wirksamkeit eintreten könnte. Sind es aber lebende Wesen, so ist bei längerem Aufbewahren mit Absterben und dem damit verbundenen Verlust der Virulenz zu rechnen. Eine früher geprüfte Probe hatte sich nach einem Jahr noch als wirksam erwiesen (Klebah 1931, 14). Auch Henderson Smith (1928) hat Virus noch nach Jahresfrist wirksam gefunden. Jetzt lagen mir zwei Proben vor, die am 1. und am 12. November 1930 in Glaskolben eingeschmolzen worden waren. Die Glaskolben, oben in eine zugeschmolzene und unten in eine offene Kapillare ausgezogen, waren gleich beim Ultrafiltrieren des Virus unter der Luftpumpe gefüllt und dann auch am unteren Ende zugeschmolzen worden. Auf diesem Wege war das Virus der zersetzenden Einwirkung von Bakterien oder Pilzen entzogen und stand während der Aufbewahrung nur mit einer winzigen unter der Kapillare zurückgebliebenen Menge Luft in Verbindung. Wenn man Virus entnehmen will, bricht man von der einen Kapillare ein Stückchen ab und erwärmt die am anderen Ende zurückgebliebene Luftblase ein wenig, wonach eine kleine Menge des Inhalts hervortritt. Man kann bei genügender Vorsicht die abgebrochene Kapillare wieder zuschmelzen und den Inhalt für weitere Verwendung aufheben.

Am 15. August 1933 wurde mit jeder der beiden Proben eine Tabakpflanze geimpft. Am 25. September waren beide Pflanzen mosaikkrank. Am 1. November wiederholte ich den Versuch mit je zwei Pflanzen. Am 7. Februar 1934 war die eine der mit Virus vom 1. November 1930 geimpften Pflanzen befallen, am 2. März auch die drei anderen. Die Inkubationszeit war bei diesem zweiten Versuch, wohl infolge der Jahreszeit (siehe oben), erheblich länger gewesen. Das in Röhren eingeschmolzen aufbewahrte Virus hatte sich also nach rund drei Jahren noch als wirksam erwiesen, eine Tatsache, die, wenn auch nicht beweisend, sich besser mit der Annahme eines leblosen Enzyms als mit der lebender Wesen verträgt.

## II. Zur Übertragbarkeit der *Abutilon-Chlorose*.

In meinem letzten Bericht über Viruskrankheiten (1931, 24) habe ich zwei Versuche beschrieben, bei denen es gelungen war, durch fünf- bis

sechsmal wiederholtes Anplatten eines buntblättrigen *Abutilon* an ein grünes, wobei die Verbindung jedesmal nach 6 bis 7 Tagen wieder gelöst wurde, eine Übertragung der infektiösen Chlorose zu erreichen. Bei diesen Versuchen dürfte zwischen den Kallusmassen, die sich an den Wundflächen bilden, eine Verwachsung oder wenigstens eine sehr innige Berührung lebender Zellen zustande gekommen sein, die genügte, um eine zur Infektion ausreichende Menge Virus übertreten zu lassen.

Das Ergebnis regte zu neuen und abgeänderten Versuchen an. Eine erste Gruppe bestand in Wiederholungen der erwähnten Anplattungsversuche, wobei aber bei jedem Versuch die Anplattung nur einmal stattfand und die Verbindung am sechsten Tage wieder gelöst wurde. Bei der zweiten Versuchsgruppe wurden Stecklinge von *Abutilon striatum* oder *Thompsoni* in gegen 1 cm dicke Stämmchen von *Abutilon Sellovianum* eingepfropft, teils im Querschnitt mitten in das Mark, teils in verschiedener Lage in seitlich angebrachte Spalte, aber stets so, daß möglichst große Teile der Wundfläche miteinander in Berührung kamen. *Abutilon Sellovianum* scheint teils wegen der Dicke auch jüngerer Stämmchen, teils wegen seiner hohen Empfänglichkeit für solche Versuche besonders gut geeignet zu sein. Nach sechs Tagen wurden die Ppropfreiser wieder herausgezogen und wurde versucht, soweit sie vom grünen *Abutilon striatum* stammten, sie als Stecklinge zum Wachsen zu bringen. Zweck der Versuche war, festzustellen, ob unter den gegebenen Bedingungen eine wirksame Übertragung von der Unterlage auf das Ppropfreis oder umgekehrt möglich sei. Erfolg trat in keinem Falle ein. Leider fand ich in der Folge wegen anderer Arbeiten nicht Zeit, die Versuche fortzusetzen.

### III. Weitere Versuche über Infektion der Anemonen mit Alloioiphylle.

Meine letzten Versuche über die Alloioiphylle der *Anemone nemorosa* (1931, 29) haben zwar gezeigt, daß die Erscheinung durch ultrafiltrierten Presssaft hervorgerufen werden kann, also eine Virus-Krankheit ist, aber der Erfolg der Impfungen war sehr spärlich. Von 1500 bis 2000 geimpften Pflanzen erkrankten nur 110, also nur etwa 6 %. Das ist sehr auffällig, wenn man damit die Impfungen mit dem Virus des Tabakmosaiks vergleicht, die fast niemals versagen. Andererseits habe ich im Voraufgehenden darauf hingewiesen, daß die einzelnen Virus-Arten sehr verschieden sind, und daß z. B. das Virus des *Abutilon Thompsoni* nur durch Ppropfung übertragbar ist.

Aber wenn schon die Infektion der Anemonen durch das aus erkrankten Pflanzen entnommene Virus in einem Teil der Fälle gelingt, so müßte es, sollte man meinen, auch einen Weg geben, sie regelmäßiger und reichlicher hervorzurufen oder den Grund zu finden, warum sie in den meisten Fällen versagt. Ich habe daher die Versuche noch mehrere Jahre fortgesetzt und sie auf verschiedene Weise variiert, kann aber

bisher nicht über günstigere Ergebnisse berichten. Erfolg trat stets ein, aber immer nur bei einem kleinen Teil der Impfungen.

Ehe ich über die letzten Versuche berichte, möchte ich auf die Schwierigkeiten hinweisen, die sich der Ausführung entgegenstellen. Das Sichtbarwerden der Alloioophyllie fällt in die kurze Zeit, wo die Anemonen voll entwickelt sind, etwa von Mitte April bis Ende Mai. Nur um diese Zeit können kranke Pflanzen eingesammelt und nur um diese Zeit oder wenig später können die Versuche gemacht werden. Kranke Pflanzen sind nur an wenigen Standorten vorhanden, auch hier nur zerstreut und nicht leicht in größerer Zahl zu finden. Es ist daher schwierig, genügende Mengen Virus-Lösung zu beschaffen. Man braucht aber größere Mengen, weil bloßes Anstechen der Pflanzen mit einem in Virus getauchten Messer nicht sicher genug scheint und die Pravazsche Spritze wegen der geringen Dicke der Rhizome und der dichten Beschaffenheit ihrer Ge- webe nicht anwendbar ist. Die Impfung kann nur an ausgegrabenen gut entwickelten Rhizomen gesunder Pflanzen erfolgen. Da diese sehr un- regelmäßig gestaltet sind, ist es schwer, sie in größerer Zahl gemeinsam zu behandeln, sie z. B. längere Zeit in Virus-Lösung untergetaucht zu halten, besonders, wenn man wenig von dieser hat. Nach der Behandlung müssen die Rhizome in Töpfe gepflanzt und diese bis zum nächsten Früh- jahr aufbewahrt werden. Während dieser Zeit können durch Zufälligkeiten Störungen entstehen, da man sie nicht ständig beobachten kann. Der Erfolg wird erst im nächsten Frühjahr sichtbar, und neue Versuche können erst dann gemacht werden.

Was das Verfahren im einzelnen betrifft, so habe ich alljährlich den größten Teil des kranken Materials, wie früher beschrieben (1928, 83 und 91), zermahlen, ausgepreßt und den Preßsaft durch ein mit Essig- kollodium ausgekleidetes Bechhold-Filter filtriert. Die zu impfenden Rhizome, mit guten weißen Endknospen versehen, wurden ein bis zwei Tage in Virus-Flüssigkeit untergetaucht, in anderen Fällen in mit Virus getränktem Sand mit Seidenpapier umwickelt gehalten, oder es wurde mit Virus getränktes Watte auf die Knospen gelegt. In allen Fällen wurden die Rhizome durch Stiche mit einem in Virus getauchten spitzen Messer verwundet. Nach der Impfung wurden je fünf bis sechs in einen Blumentopf gepflanzt. Die positiven Ergebnisse waren nicht zahlreich genug, um erkennen zu lassen, welches der angedeuteten Verfahren den Vorzug verdient. Neben Versuchen, die den Zweck haben, weitere Beweise dafür zu bringen, daß das wirksame Agens ein filtrier- bares Virus ist, wurden stets auch solche gemacht, deren positiver Erfolg zwar nur die Anwesenheit irgend eines infizierenden Erregers überhaupt erweisen, aber zur Erklärung der Vorgänge, die sich in der Natur ab- spielen, beitragen könnte. Schon meine ersten Versuche (1926, 422) hatten gezeigt, daß zerschnittene, nicht mehr wachstumsfähige Teile alloioophyller

Anemonen, mit den Rhizomen in die Erde gebracht, die Krankheit hervorrufen können, und ebenso Erdboden, der von den ausgegrabenen Rhizomen kranker Pflanzen abgeschüttelt wird. Bemerkenswerterweise sind die auf diesem Wege erzielten Infektionen zahlreicher und oft auch kräftiger als die mit filtriertem Virus hervorgebrachten. Das scheint auf eine von den auf oder in den Boden gelangenden absterbenden Teilen ausgehende Infektion hinzuweisen, wobei allerdings Weg und Kräfte, die diese Übertragung vermitteln, unklar bleiben. Ich habe daher auch mit faulenden Teilen alloiophylle Anemonen Versuche gemacht, bei denen zwar die Preßerde, aber nicht der Preßsaft, Erfolg brachten. Endlich wurden mit dem aus getrocknetem Laub hergestellten Pulver Versuche gemacht, wobei sich wohl das Pulver selbst und die nach Extraktion mit Wasser zurückbleibenden Reste, nicht aber das Extrakt als wirksam erwiesen. Einmal wurden auch Rhizome und Endknospen mit zerquetschten kranken Blättern eingerieben, auch nur mit sehr geringem Erfolg. Da die letzten Versuche nur einmal gemacht wurden, bleibt die Möglichkeit, daß Wiederholungen zu günstigeren Ergebnissen führen könnten.

#### Versuche 1931—1932.

- A. Alloiophylle Anemonen von Steinbergen, faulendes Laub ausgepreßt, Preßsaft ultrafiltriert (Bechhold-Tiegel mit Kollodiumauskleidung), 16. Mai.
  - 1. Rhizome gesunder Anemonen 2 Tage in mit Filtrat durchtränkten Sand eingepackt, dann gepflanzt. 13 Töpfe. — Ohne Erfolg.
  - 2. Rhizome mit Preßresten und Filtrationsrückständen in Seidenpapier eingeschlagen gepflanzt. 11 Töpfe. — Erfolg: In 2 Töpfen zusammen 3 befallene Pflanzen.
- B. Alloiophylle Anemonen von Niendorf, frisch zermahlen und ausgepreßt, Preßsaft wie oben filtriert, 25. Mai.
  - 1. Rhizome 2 Tage in Filtrat untergetaucht gehalten, dann in filtratgetränktem Sand in Seidenpapier eingeschlagen gepflanzt. 12 Töpfe. — Erfolg: In 4 Töpfen 3 deutlich befallene und 1 zweifelhafte Pflanze.
  - 2. Rhizome mit Preßresten umgeben gepflanzt. 2 Töpfe. — Erfolg: In einem Topf 4 stark befallene Pflanzen, der andere zweifelhaft.
- C. Andere Versuche mit Material von Niendorf, 28. Mai.
  - 1. Rhizome mit frischen alloiophyllen Blättern umwickelt gepflanzt. 6 Töpfe. — Erfolg: In 3 Töpfen je 2, zusammen 6 befallene Pflanzen.
  - 2. Rhizome mit frischen zerquetschten Blättern eingerieben, dann gepflanzt. 8 Töpfe. — Erfolg: In einem Topf 1 stark befallene Pflanze, ein anderer zweifelhaft.
  - 3. Rhizome beim Pflanzen mit der von kranken Pflanzen abgeschüttelten Erde bedeckt. 10 Töpfe. — Erfolg: In 3 Töpfen zusammen 4 befallene Pflanzen. In einem vierten Topf später (November) noch 1 befallene Pflanze.

#### Versuche 1932—1933.

Die Versuche dieses Jahrgangs müssen ausgelassen werden, weil anscheinend durch ein Versehen des mit der Aufsicht betrauten Gärtners der größere Teil im Frühjahr nicht wieder aufzufinden war.

### Versuche 1933—1934.

- A. Alloiphylle Anemonen von Steinbergen, getrocknet, dann gepulvert, 6. Mai.
1. Rhizome besonders an den Knospen mit Pulver und Seidenpapier umhüllt, dann gepflanzt. 10 Töpfe. — Erfolg: In 3 Töpfen zusammen 5 Pflanzen teils stark, teils schwächer befallen.
  2. Pulver mit Wasser ausgelaugt, Extrakt ultrafiltriert (wie oben). Rhizome durch 2-tägiges Untertauchen geimpft. 4 Töpfe. — Ohne Erfolg.
  3. Extrakt durch Cella-Filter filtriert, sonst wie 2. 2 Töpfe. — Ohne Erfolg.
  4. Rhizome mit den Extraktionsrückständen umgeben gepflanzt. 4 Töpfe. — Erfolg: In einem Topf 1 Pflanze befallen.
- B. Alloiphylle Anemonen von Niendorf, frisch gemahlen und ausgepreßt, 15.—20. Mai.
1. Ultrafiltration durch Bechhold-Tiegel mit Kollodiumauskleidung. Impfung durch Anstechen mit Messer und Pravaz-Spritze. 2 Töpfe. — Erfolg: Nur 1 Pflanze befallen.
  2. Filtration durch Cella-Filter, sonst wie 1. 2 Töpfe. — Ohne Erfolg.
  3. Ultrafiltration durch Bechhold-Tiegel mit Kollodiumauskleidung. Impfung mit Messer und Pravaz-Spritze, Knospen zwei Tage in Filtrat getaut. 3 Töpfe. — Erfolg: 5 Pflanzen befallen, eine sehr stark, die anderen schwächer; in einem Topf nur eine, in den anderen je zwei.
  4. Filtration durch Cella-Filter, sonst wie 3. 3 Töpfe. — Erfolg: Nur 1 Pflanze, diese stark befallen.
  5. Mischung der Reste der Filtrate von 3 und 4. 2 Töpfe geimpft. — Erfolg: 1 Pflanze befallen.
  6. Preßreste, beim Auspflanzen auf die Knospen gelegt. 3 Töpfe. — Erfolg: 6 Pflanzen stark, 2 schwach befallen.

### IV. Eine Mosaikkrankheit der Gurken.

Die Veranlassung zu den im Folgenden beschriebenen Versuchen war eine gelbfleckige Gurke, die mir ein Hamburgischer Landwirt, Herr A. Reymers in Ochsenwärder, im Juli 1934 mit der Anfrage nach Ursache und Abhilfe überbrachte. Er berichtete dazu, daß zunächst die Blätter gelbfleckig würden und dann nach und nach sämtliche Früchte. Die Erscheinung war mir unbekannt, erinnerte mich aber an Mosaikkrankheiten, und es interessierte mich, festzustellen, ob es sich um eine solche handle.

Ich zog eine Anzahl Gurkensämlinge heran, ließ mir dann eine neue Gurke schicken und impfte mit deren durch einen mit Essig-Kollodium ausgekleideten Bechhold-Tiegel filtriertem Saft die Keimblätter. Nachdem sich einige Blätter entwickelt hatten, zeigten sich auf diesen an drei Pflanzen gelbliche Flecken. Herr Dr. E. Manshard hatte die Güte, von einem Blatte, das die Erscheinung besonders deutlich zeigte, mit durchfallendem Licht eine Photographie aufzunehmen (Abb. 1) und ebenso von einem Stück einer kranken Gurke bei auffallendem Licht (Abb. 2).

Ein Teil des ultrafiltrierten Saftes war gleich beim Filtrieren in Glasröhren aufgesogen und eingeschmolzen worden und wurde für weitere Versuche aufbewahrt.

Im Frühjahr 1935 wurden für eine Wiederholung der Versuche Samen von acht verschiedenen Sorten Treibgurken besorgt. Am 3. Juni, als die daraus erzogenen Keimlinge zwei bis drei Laubblätter hatten, impfte ich einen Teil derselben an den Keimblättern und den ersten Laubblättern mit dem in Röhren eingeschmolzen aufbewahrten ultrafiltrierten Preßsaft von 1934.

Diese Versuche blieben ohne Erfolg. Als sich bis Mitte Juli nichts gezeigt hatte, erbat ich nochmals eine kranke Gurke und impfte am 30. Juli mit deren ausgepreßtem Saft ohne voraufgehende Ultrafiltration, da es für dieses etwas umständliche Verfahren an Zeit gebrach, einen Teil der inzwischen weiter herangewachsenen Pflanzen. Ende August zeigten vier Pflanzen, die nun etwa 40 cm hoch geworden waren, deut-

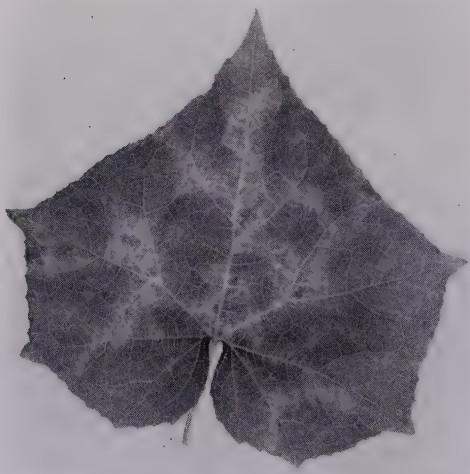


Abb. 1.  
Junges Blatt eines durch Infektion  
mosaikkrank gemachten Gurkensämlings.



Abb. 2.  
Teil einer mosaikkranken  
Gurkenfrucht.

liche Symptome der Mosaikkrankheit, und zwar zwei der Sorte „Spot resisting“ und je eine der Sorten „Blaus Erfolg“ und „Deutscher Sieger“. Bei einigen anderen war die Infektion zweifelhaft. Die Erscheinung zeigte sich an den jüngsten einigermaßen herangewachsenen Blättern (von 6—8 cm Durchmesser). Diese hatten hellere, etwas gelbliche Stellen, die mit dunkleren grünen, oft nach oben etwas konvex gewölbten abwechselten, ähnlich wie es sich am mosaikkranken Tabak zeigt, aber bei weitem nicht so auffällig. Als ich nach einer längeren Abwesenheit die Pflanzen am 3. Oktober wieder besichtigte, waren die nur in Töpfen und

daher nicht unter besonders günstigen Umständen wachsenden Pflanzen nicht mehr von guter Beschaffenheit. Die meisten Blätter waren zwar gelbfleckig, aber nicht so, wie es für die Mosaikkrankheiten charakteristisch ist, und offenbar infolge Alters oder anderer Umstände. Das ist übrigens eine Erscheinung, die ich auch an mosaikkrankem Tabak oft beobachtet habe, wenn er älter wird. Immerhin waren noch einige Pflanzen vorhanden, an denen die obersten eben ausgebreiteten Blätter die Flecken einigermaßen deutlich zeigten. Neue Versuche zu machen, war es zu spät.

Wenn ich auch deutlichere Ergebnisse erwartet hatte, so geht aus den Versuchen doch hervor, daß die vorliegende Erscheinung eine übertragbare Viruskrankheit ist. Ich teile die Beobachtungen mit, da ich nicht übersehe, ob diese Krankheit in der deutschen phytopathologischen Literatur bereits erwähnt ist. In Amerika haben Doolittle (1920) und Walker (1926, 456) Gurkenmosaik beobachtet. Nach ihren Mitteilungen dürfte es sich um dieselben Erscheinungen handeln, wie die mir vorliegenden. Ich habe in meiner letzten Arbeit über Viruskrankheiten (1931, 6 und 14) bereits darauf hingewiesen, daß das Virus der von diesen Autoren beobachteten Krankheit sich nach ihren Angaben erheblich anders verhält als das Virus des Tabakmosaiks. Es soll beim Trocknen die Virulenz verlieren und ebenso schon bei 70° Wärme. Doolittle (1920, 65) gibt an, daß es sich überhaupt nur 24—48 Stunden halte, und meint, daß es viele Eigenschaften eines lebenden Organismus habe. Diese Empfindlichkeit erschwert begreiflicherweise das Arbeiten mit diesem Virus und erklärt wohl auch den Mißerfolg meiner Versuche mit aufbewahrtem Filtrat.

Zur Bekämpfung der Krankheit sollte man, da sie übertragbar ist, erkrankende Pflanzen möglichst bald beseitigen, gesunde nicht mit demselben Messer beschneiden, das man für kranke benutzt hat, ohne es vorher, am besten durch Eintauchen in siedendes Wasser, gründlich gereinigt zu haben, und saugende oder beißende Tiere, die vermutlich Überträger sein können, durch geeignete Mittel abtöten. Heilung einmal erkrankter Pflanzen dürfte unmöglich sein. Daß Boden- oder Düngungsverhältnisse die Krankheit hervorrufen könnten, ist unwahrscheinlich.

---

Zum Schlusse spreche ich Herrn Professor Dr. K. Kindler (Chem. Institut) und Herrn Dr. E. Manshard (Institut für allgemeine Botanik) für freundliche Hilfe meinen wärmsten Dank aus.

---

### Literatur.

- Bechhold, H., 1934: Ferment oder Lebewesen? *Kolloid-Zeitschrift* a) **66**, 329—340; b) **67**, 66—79.
- Bechhold und Schlesinger, M., 1933: Größe von Virus der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. *Phytopathologische Zeitschrift* **6**, 627—631.
- Doolittle, S., P., 1920: The mosaic-disease of cucurbits. U. S. Dep. of Agric. Bull. Nr. 879, 1—69.
- Duggar, B. M., 1926: The nature of mosaic-diseases. Proceed. internat. congr. of plant sciences **2**, S. 1231 (publ. 1929).
- Duggar and Karrer, J., L., 1927: The sizes of the infective particles in the mosaic-disease of tobacco. Ann. of the Missouri Bot. Garden **8**, 343.
- Goldsworth, M., C., 1926: Attempts to cultivate the tobacco mosaic virus. *Phytopathology* **15**, 155.
- Henderson Smith, J., 1928: Experiments with a mosaic disease of tomato. The annals of applied biology **15**, 155.
- Klebahn, H., 1919: Die Schädlinge des Klippfisches. Ein Beitrag zur Kenntnis der salzliebenden Bakterien. Mitteilungen aus dem Institut für allgemeine Botanik in Hamburg **4**.
- Klebahn, H., 1926: Die Alloiophyllie der *Anemone nemorosa* und ihre vermutliche Ursache. *Planta* **1**, 419.
- Klebahn, H., 1928: Experimentelle und cytologische Untersuchungen im Anschluß an Alloiophyllie und Viruskrankheiten. *Planta* **6**, 40.
- Klebahn, H., 1931: Fortsetzung der experimentellen Untersuchungen über Alloiophyllie und Viruskrankheiten. *Phytopathologische Zeitschrift* **4**, 1—36.
- Miehe, H., 1923: Sind ultramikroskopische Organismen in der Natur verbreitet? Biologisches Zentralblatt **43**, 1.
- Mulvaney, M., 1925: Cultivation of the virus of tobacco mosaic by the method of Ollitzky. *Science* **62**, 37.
- Ollitzky, P., K., 1924: Experiments on the cultivation of the active agent of mosaic disease of tobacco and tomato plants. *Science N. S.* **60**, 593.
- Purdy, H., A., 1926: Attempt to cultivate an organism from tomato mosaic. *Botan. Gazette* **81**, 210.
- Walker, M., N., 1926: A comparative study of the mosaic diseases of cucumber, tomato and Physalis. *Phytopathology* **16**, 431.

# Einige Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit rostinfizierter Getreideblätter.

Von

G. Gaßner und G. Goeze.

Mit 13 Textabbildungen.

Wenn es auch keinem Zweifel unterliegen kann, daß die durch den Rostbefall bedingte Verminderung der grünen Blattfläche die Assimilationsleistung herabsetzt, so fehlt es auch heute noch in mehrfacher Hinsicht an einem näheren Einblick in die Wirkungen des Rostpilzes auf das physiologische Leistungsvermögen des befallenen Blattes. Wir wissen nicht, von welchem Zeitpunkt an sich die Folgen der eingetretenen Infektion in einer Herabsetzung der assimulatorischen Leistung des Blattes kenntlich machen; wir sind über die zahlenmäßige Größe dieser Herabsetzung ebensowenig unterrichtet wie über die Frage, ob die Beeinflussung der Assimilationsgröße ausschließlich auf den Änderungen des Chlorophyllgehaltes beruht oder ob andere Faktoren, wie der Gasaustausch und die Transpirationsgröße, ebenfalls Veränderungen erfahren, die auf das Assimilationsverhalten zurückwirken. Auch bezüglich der Beeinflussung der assimulatorischen Leistung der Blätter durch die verschiedenen Infektionsarten von I (= immun) über O (= hochresistent) zum Typus IV (= hochanfällig) sind wir bisher nur auf Vermutungen angewiesen, wenn auch die Ergebnisse von Ertragsversuchen mit Sorten verschiedenen Anfälligkeitgrades gewisse Hinweise auf die Beeinflussung der Blattfunktionen geben können.

Einen vollen Einblick in die Wirkungen des Rostbefalles auf die Leistungsfähigkeit der infizierten Blätter können wir naturgemäß nur aus Versuchen erwarten, in denen die Assimilationsgröße geimpfter Blätter mit derjenigen unbehandelter Kontrollpflanzen in Vergleich gesetzt wird. Bei der starken Abhängigkeit der Assimilationsgröße von den Anzucht- und sonstigen Versuchsbedingungen, sowie vom Alter der Versuchspflanzen (Gaßner und Goeze 3, 4) dürfen alle Einzelbestimmungen an infizierten Blättern nur auf gleichzeitig durchgeführte Parallelbestimmungen nichtgeimpfter Blätter bezogen werden, wobei die weitere Voraussetzung erfüllt sein muß, daß die Pflanzen derselben Versuchsserie nicht nur gleichzeitig, sondern auch unter genau gleichen Bedingungen (Boden, Temperatur, Licht usw.) angezogen sind.

In den folgenden Untersuchungen ist also die Assimilationsgröße geimpfter und ungeimpfter Blätter festgestellt, wobei ein näherer Einblick in die Bedeutung der Rostinfektion dadurch versucht wurde, daß die Verschiebungen des Assimilationsverhaltens durch wiederholte, zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Impfung durchgeführte Bestimmungen festgelegt wurden. Da die Assimilationsgröße einerseits vom Chlorophyllgehalt abhängt, andererseits vom Gasaustausch bestimmt wird, für dessen Größe unter bestimmten Voraussetzungen die Transpiration einen gewissen Maßstab abgibt, so wurden die Untersuchungen durch Chlorophyllbestimmungen sowie schließlich durch die Feststellung des Transpirationsverhaltens geimpfter und ungeimpfter Blätter ergänzt.

Alle Bestimmungen sind an abgeschnittenen Blättern junger Getreidepflanzen durchgeführt. Bezüglich der Versuchsmethodik muß auf unsere früheren Veröffentlichungen verwiesen werden. (2, 3 u. a. O.) Für das Verständnis und die Beurteilung der im folgenden mitgeteilten Versuchsdaten genügen die folgenden Hinweise.

Die Assimilationsgröße ist stets als Milligramm CO<sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche angegeben. Jeder mitgeteilte Wert ist das Mittel von drei in kurzem Zeitabstand aufeinander folgenden Einzelbestimmungen, deren erste nach einer Vorassimilation von 20 Minuten durchgeführt ist. Die Temperatur während der Assimilationsbestimmungen betrug gleichmäßig 21,5 °C. Da auch alle sonstigen Versuchsbedingungen (CO<sub>2</sub>-Gehalt der Luft, Geschwindigkeit des Luftstromes, Versuchsdauer, Belichtung usw.) gleich gehalten sind, gestatten die mitgeteilten Werte einen unmittelbaren Vergleich.

Zur Ermittlung des Chlorophyllgehaltes wurden Aceton-chlorophyllauszüge hergestellt und mittels des Zeißschen Stufenphotometers unter Vorschaltung des Filters S 61 geprüft. Als Maßstab des Chlorophyllgehaltes ist der auf 100 qcm Blattfläche berechnete Extinktionskoeffizient benutzt.

Die Feststellung der Transpirationsgröße erfolgte gleichzeitig mit den Assimilationsbestimmungen, also ebenfalls unter Konstanz der Versuchsbedingungen. Die erhaltenen Werte sind auf die Wasserabgabe je Stunde und 100 qcm Blattfläche umgerechnet.

Als Versuchspflanzen wurden junge Getreidepflanzen benutzt, die in üblicher Weise unter Gewächshausbedingungen herangezogen waren. Auf eine möglichst gleichmäßige Belichtung der zu derselben Versuchsreihe gehörenden Pflanzen wurde besonderer Wert gelegt. Da die Zuverlässigkeit der Ergebnisse auch von der gleichmäßigen Gestaltung der Mineral-salzernährung abhängt (2, 3, 4), erfolgte die Anzucht in besonders sorgfältig gemischtem Erdboden oder in Sand mit dem gleichen Zusatz von Nährösungen.

Als Getreideart wurde Weizen, als Rostart zunächst *Puccinia glumarum* gewählt, weil diese am leichtesten eine gleichmäßige Allgemeininfektion der gesamten Blattspreite gestattet. Zur Sicherstellung des Impferfolges wurde die Impfung in bewährter Weise mit einem Wattepinsel vorgenommen (Gaßner und Straib, 5). Nach der Impfung standen die Pflanzen zunächst zwei Tage unter Glocken und dann frei im Gewächshaus. Die Kontrollpflanzen wurden genau wie die Versuchspflanzen behandelt, wobei jedoch die mit dem Wattepinsel aufgetragene schwache Agarlösung kein Sporenmaterial enthielt.

Um einen Einblick in die Bedeutung des auftretenden Infektions-  
typus auf das Assimilationsverhalten des Blattes zu gewinnen, um also  
festzustellen, ob die Veränderungen der Assimulationsgröße bei resistenten  
und anfälligen Pflanzen den gleichen Gesetzmäßigkeiten folgen, wurden  
zu den Versuchen nebeneinander entweder verschieden anfällige  
Sorten mit der gleichen Gelbrostrasse geimpft, oder es wurden  
Pflanzen der gleichen Weizensorte mit verschiedenen, einen  
unterschiedlichen Rostbefall erzeugenden Gelbrostrassen infiziert.

In der folgenden Tabelle 1 ist eine Versuchsreihe wiedergegeben,  
in der das Assimilationsverhalten von *Peragis Baltikum* als an-

Tabelle 1.

**Vergleichende Assimilationsbestimmungen ungeimpfter und mit Gelrost  
geimpfter Weizenblätter (Gelbrostrasse 4).**

Weizensorten und Rostbild:

*Peragis Baltikum* als anfällige Sorte (Infektionstypus IV).

*Krafft's Dickkopf* als resistente Sorte (Typus 0-II)

Die angegebenen Infektionstypen gelten für die vorliegenden Licht- und Temperaturverhältnisse.

Aussaat: 12. Januar 1933.

Impfung: 23. Januar 1933.

Assimilationsbestimmungen: 3 bis 17 Tage nach erfolgter Impfung.

Weizensorten	Tage nach Impfung	Ungeimpfte Blätter			Geimpfte Blätter			Relative Assimi- lationswerte (Ungeimpft = 100)	
		Assimilationsgröße (mg CO <sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche)			Assimilationsgröße (mg CO <sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche)				
		Nr. 1 <sup>1)</sup>	Nr. 2 <sup>1)</sup>	Mittel	Nr. 1 <sup>1)</sup>	Nr. 2 <sup>1)</sup>	Mittel		
<b>Peragis Baltikum</b>	4	20,8	20,8	<b>20,8</b>	20,8	18,6	<b>19,7</b>	95	
	7	21,3	19,4	<b>20,4</b>	18,2	20,4	<b>19,3</b>	95	
	9	20,2	19,5	<b>19,9</b>	14,0	14,4	<b>14,2</b>	71	
	11	18,0	16,2	<b>17,1</b>	8,3	9,1	<b>8,7</b>	51	
	17	11,6	11,4	<b>11,5</b>	3,5	4,4	<b>4,0</b>	35	
<b>Krafft's Dickkopf</b>	3	18,0	17,0	<b>17,5</b>	15,7	15,7	<b>16,8</b>	93	
	5	18,4	17,4	<b>17,9</b>	17,1	16,7	<b>16,9</b>	94	
	8	18,6	19,0	<b>18,8</b>	17,7	16,9	<b>17,3</b>	92	
	10	15,0	16,6	<b>15,8</b>	11,8	9,8	<b>10,8</b>	64	
	16	11,8	10,6	<b>11,2</b>	1,8	4,8	<b>3,3</b>	30	

<sup>1)</sup> Mittelwerte von je 3 Bestimmungen.

fälliger und Kraffts Dickkopf als resistenter Sorte nach Impfung mit Gelbrostrasse 4 mit demjenigen gleichzeitig herangezogener ungeimpfter Pflanzen der gleichen Sorten in Vergleich gesetzt ist.

Die Ergebnisse seien an Hand der graphischen Darstellungen (Abb. 1 u. 2) besprochen. Die Assimilationsgröße ungeimpfter Blätter zeigt etwa vom neunten Tage an, von der Aussaat gerechnet nach dem zwanzigsten Tage, ein deutliches Absinken der Assimilationsgröße. Wir haben diesen Kurvenverlauf an anderer Stelle (3, 4) ausführlich besprochen: Der Abfall der Assimilationsgröße steht nach unseren früheren Feststellungen mit dem Eintreten eines gewissen Stickstoffmangels im Zusammenhang.

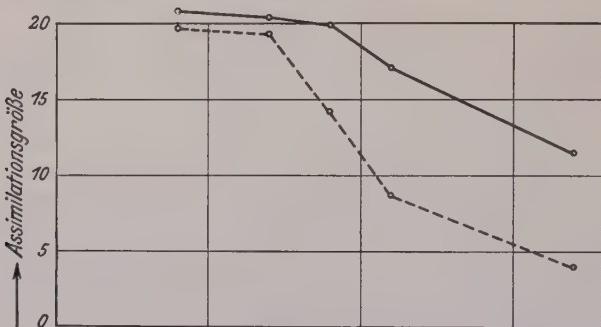


Abb. 1.

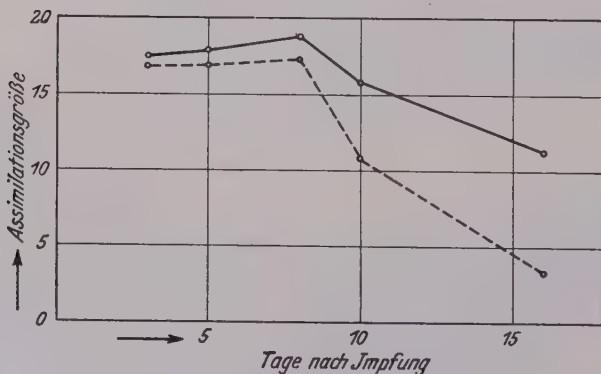


Abb. 2.

— ungeimpft. — — geimpft.

Assimilationsgröße (mg CO<sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche).

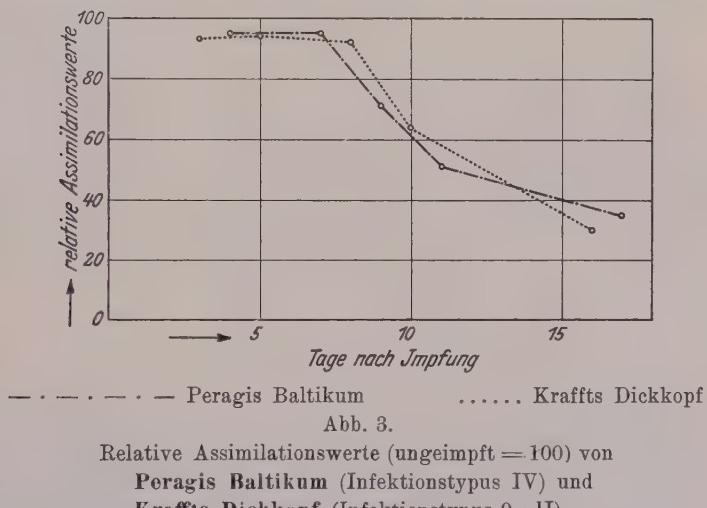
Abb. 1. Peragis-Baltikum-Weizen (Gelbrostrasse IV, Infektionstypus IV).

Abb. 2. Kraffts Dickkopf-Weizen (Gelbrostrasse IV, Infektionstypus 0 II).

Die Assimilationsgröße der geimpften Blätter weist während der ersten 7 bis 8 Tage nach der Impfung keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auf. Allerdings scheint es kein Zufall zu sein, daß die gefundenen Werte meist etwas unter denjenigen der Kontrollpflanzen liegen.

Es muß nämlich berücksichtigt werden, daß wir nicht die absolute Assimilationsgröße, sondern den Assimilationsüberschuß bestimmt haben. Wir müssen natürlich annehmen, daß zu der durch Atmung der Blätter freiwerdenden  $\text{CO}_2$  noch die Kohlensäuremenge kommt, die durch die Atmung des sich entwickelnden Pilzmyzels gebildet wird. Berücksichtigen wir dies, so kommen wir zu dem Schluß, daß die Assimilationsleistung der infizierten Blätter während der ersten sieben bis acht Tage nach der Impfung unverändert bleibt.

Ganz anders verläuft aber die Assimilationskurve der infizierten Blätter bei weiterer Ausdehnung des Versuches, wenn es nunmehr zum Auftreten von Blattverfärbungen und zur Fruktifikation des Rostpilzes kommt. Die



Relative Assimilationswerte (ungeimpft = 100) von

**Peragis Baltikum** (Infektionstypus IV) und

**Kraffts Dickkopf** (Infektionstypus 0-II)

nach Impfung mit Gelbrostrasse 4.

Assimilationswerte gleiten nunmehr stark ab, wobei übrigens ebenfalls wieder zu berücksichtigen ist, daß die Werte nur den Assimilationsüberschuß und nicht die absolute Assimilationsgröße darstellen. Die „absolute“ Assimilationskurve muß etwas höher liegen.

Von Interesse ist die Feststellung, daß sich das Abgleiten der Assimilationswerte bei resistenten und anfälligen Weizenblättern in annähernd gleicher Weise vollzieht. **Peragis Baltikum** zeigt bei Impfung mit Gelbrostrasse 4 den höchsten Infektionstypus IV, also vollen Pustelausbruch ohne wesentliche Verfärbungen, **Kraffts Dickkopf** den resistenten Typus 0-II, also starke chlorotische Verfärbungen mit vereinzelten Pustellagern. Nach 16 bis 17 Tagen beträgt die auf die Blattflächeneinheit bezogene Assimilationsgröße in beiden Fällen nur noch etwa den dritten Teil der normalen Assimilationsgröße. Die Übereinstimmung wird noch deutlicher, wenn wir (Abb. 3) die auf die ungeimpften Pflanzen bezogenen relativen Assimilationswerte zur Darstellung bringen (Werte der unge-

impften Pflanzen = 100 gesetzt); der Kurvenverlauf ist bei anfälligen und resistenten Typen weitgehend übereinstimmend.

Da die Assimilationsgröße vorwiegend eine Funktion des Chlorophyllgehaltes ist, muß die Erklärung für das Absinken der Assimilationsgröße infizierter Weizenblätter in erster Linie in der Beeinflussung des Chlorophyllapparates gesucht werden; in diesem Sinne spricht vor allem auch die Tatsache, daß sich die ersten äußeren Zeichen der gelungenen Infektion in Hellfärbungen der Infektionsstellen bemerkbar machen, und daß der Zeit-

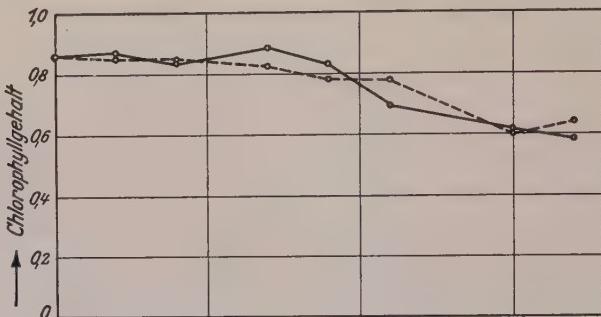


Abb. 4.

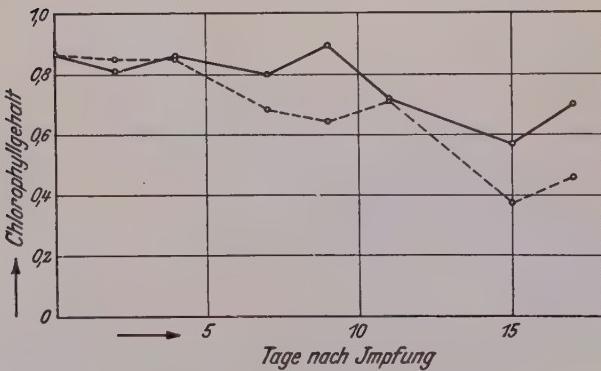


Abb. 5.

— ungeimpft — — — geimpft.  
Chlorophyllgehalt (Extinktionskoeffizient für 100 qcm Blattfläche)  
ungeimpfter und geimpfter Blätter.

Abb. 4. Spaldings prolific-Weizen (Gelbrostrasse 4, Infektionstypus i)

Abb. 5. Krafts Dickkopf-Weizen (Gelbrostrasse 4, Infektionstypus 0-II).

punkt dieser Verfärbungen genau mit der Zeit übereinstimmt, bei der wir den Beginn des Absinkens der Assimilationsgröße beobachten können.

In dem Versuch der Tabelle 2 sind die Veränderungen des Chlorophyllapparates an vier verschiedenen und verschieden anfälligen Weizensorten durch die Feststellung des Extinktionskoeffizienten zahlenmäßig ermittelt. Zur Verwendung kamen: Spaldings prolific als immune Sorte (Typus i), Krafts Dickkopf als resistente Sorte (Typus 0-II),

Ardito als mäßig anfällige Sorte (Typus II—IV) und Michigan Bronce als sehr anfällige Sorte (Typus IV). Die eben angegebenen Infektionstypen gelten für die wieder verwendete Gelbrostrasse 4 (Tabelle 2).

Die Ergebnisse der Versuchsreihen sind zur besseren Übersicht in den Abb. 4 bis 7 graphisch wiedergegeben. Bei den Blättern der ungeimpften Kontrollpflanzen beobachten wir nach dem 7. Tage (= 18 Tage nach der Aussaat) ein Sinken der Chlorophyllwerte, das allerdings weniger stark ist und dem Abgleiten der Assimilationswerte

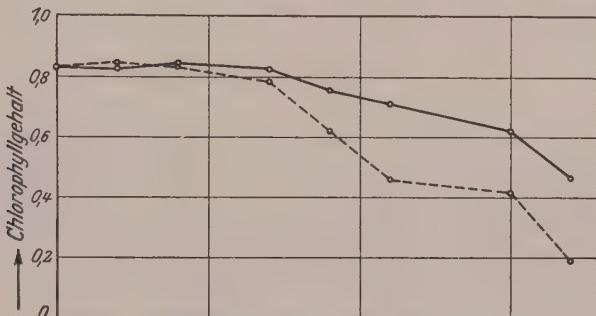


Abb. 6.

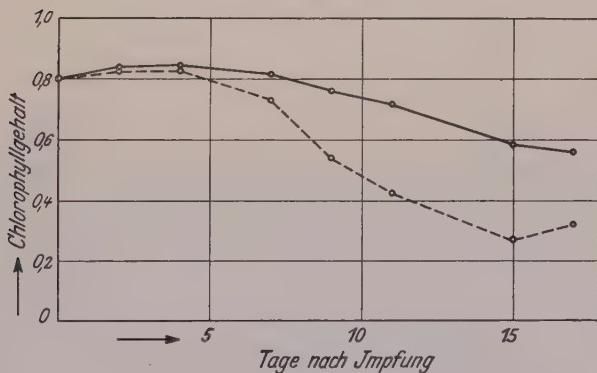


Abb. 7.

—— ungeimpft    - - - - - geimpft.

Chlorophyllgehalt (Extinktionskoeffizient für 100 qcm Blattfläche)  
ungeimpfter und geimpfter Blätter.

Abb. 6. Ardito-Weizen (Gelbrostrasse 4, Infektionstypus III—IV)

Abb. 7. Michigan Bronce-Weizen (Gelbrostrasse 4, Infektionstypus IV).

in den Versuchen von Tabelle 1 nicht ganz entspricht. Nun dürfen aber die Versuche von Tabelle 1 und Tabelle 2 schon im Hinblick auf die durch die ungleichzeitige Versuchsdurchführung bedingten unvermeidlichen Unterschiede der Versuchsbedingungen nicht unmittelbar verglichen werden; vor allem aber müssen sich die Wirkungen eintretenden Stickstoffmangels deshalb in den Versuchen von Tabelle 2 weniger stark äußern, weil die Versuchsgefäße dieser Versuchsreihe eine zusätz-

Tabelle 2.

**Vergleichende Chlorophyllbestimmungen ungeimpfter  
und mit Gelbrost (Rasse 4) geimpfter Weizenblätter.**

Weizensorte und Rostbild: Spaldings prolific, immun (Typ i),  
 Kraffts Dickkopf, resistant (Typ 0-II).  
 Ardito, anfällig (Typ III-IV).  
 Michigan Bronce, hochanfällig (Typ IV).

Aussaat: 16. August 1934.

Chlorophyllbestimmungen: 0 bis 17 Tage nach Impfung.

Weizensorte	Tage nach Impfung	Chlorophyllgehalt (Extinktionskoeffizient für 100 qcm Blattfläche)		Relative Chlorophyllwerte der geimpften Blätter
		ungeimpft	geimpft	
<b>Spaldings prolific</b>	0	0,860	—	—
	2	0,870	0,850	98
	4	0,835	0,850	102
	7	0,885	0,825	92
	9	0,830	0,780	94
	11	0,695	0,775	112
	15	0,615	0,600	98
	17	0,585	0,640	110
<b>Kraffts Dickkopf</b>	0	0,865	—	—
	2	0,810	0,850	105
	4	0,860	0,850	99
	7	0,800	0,685	86
	9	0,895	0,645	72
	11	0,720	0,710	99
	15	0,570	0,375	66
	17	0,700	0,460	66
<b>Ardito</b>	0	0,830	—	—
	2	0,825	0,845	102
	4	0,845	0,830	98
	7	0,825	0,785	95
	9	0,755	0,620	82
	11	0,710	0,460	65
	15	0,620	0,415	67
	17	0,465	0,190	41
<b>Michigan Bronce</b>	0	0,800	—	—
	2	0,840	0,825	98
	4	0,845	0,825	98
	7	0,815	0,730	90
	9	0,760	0,540	71
	11	0,715	0,425	59
	15	0,585	0,270	46
	17	0,560	0,320	57

Tabelle 3.

**Vergleichende Bestimmungen  
von Assimilationsgröße, Chlorophyllgehalt und Transpiration  
der Blätter von Strubes Dickkopf, ungeimpft und nach Impfung  
mit zwei verschiedenen Gelbrostrassen (6 und 18).**

Rostbild nach Impfung mit Rasse 6: Infektionstypus IV (hochanfällig)

Rostbild nach Impfung mit Rasse 18: Infektionstypus i (immun).

Aussaat: 16. November 1933.

Impfung: 27. November 1933.

Bestimmungen: 3 bis 16 Tage nach Impfung.

Rost-Rasse	Bestimmung von	Tagen nach Impfung	Ungeimpft			Geimpft			Relative Werte, ungeimpft = 100
			Nr. 1	Nr. 2	Mittel	Nr. 1	Nr. 2	Mittel	
Rasse 6	Assimilation <sup>1)</sup> (mg CO <sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche)	4	4,1		4,1	4,2	—	4,2	100
		6	13,6	12,7	13,2	12,4	—	12,4	95
		9	15,1	13,9	14,5	13,0	11,2	12,1	83
		13	15,1	15,5	15,3	8,9	9,2	9,0	59
		16	13,0	12,8	12,9	4,8	5,7	5,3	41
	Chlorophyllgehalt (Extinktionskoeffizient je 100 qcm Blattfläche)	4	0,525	0,565	0,545	0,525	0,525	0,525	96
		6	0,595	0,555	0,575	0,510	0,595	0,555	96
		9	0,665	0,655	0,660	0,580	0,565	0,573	87
		13	0,630	0,630	0,630	0,430	0,480	0,455	72
		16	0,655	0,630	0,643	0,360	0,440	0,400	62
	Transpiration (mg H <sub>2</sub> O je Stunde und 100 qcm Blattfläche)	4	400	405	403	430	390	410	101
		6	920	—	920	880	—	880	96
		9	995	945	970	995	975	985	103
		13	945	880	913	1050	1060	1055	115
		16	970	1040	1005	1150	1170	1160	115
Rasse 18	Assimilation (mg CO <sub>2</sub> je Stunde und 100 qcm Blattfläche)	3	4,1	3,2	3,7	3,7	3,2	3,5	95
		5	9,9	7,8	8,9	6,8	8,5	7,7	87
		8	12,9	—	12,9	11,3	—	11,3	88
		12	13,5	14,3	13,9	12,7	12,4	12,6	91
		15	15,4	13,0	14,2	13,0	12,8	12,9	91
	Chlorophyllgehalt (Extinktionskoeffizient je 100 qcm Blattfläche)	3	0,520	0,575	0,548	0,555	0,550	0,553	101
		5	0,550	0,540	0,545	0,525	0,590	0,558	102
		8	0,675	0,665	0,670	0,630	0,655	0,643	96
		12	0,695	0,615	0,655	0,615	0,625	0,620	95
		15	0,650	0,605	0,628	0,595	0,600	0,598	95
	Transpiration (mg H <sub>2</sub> O je Stunde und 100 qcm Blattfläche)	3	430	350	390	410	—	410	105
		5	750	760	755	690	815	753	100
		8	940	—	940	965	—	965	103
		12	1030	1010	1020	930	955	943	93
		15	1070	950	1010	1010	1000	1005	100

<sup>1)</sup> Jeder der unter Nr. 1 und Nr. 2 angegebenen Werte ist bereits der Mittelwert von je drei ermittelten nacheinander vorgenommenen Assimilationsbestimmungen (vergl. S. 373).

liche N-Düngung erhalten hatten (je 20 ccm einer 0,15 %igen Lösung von  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ). Quantitative Übereinstimmung der Chlorophyllwerte mit den Assimilationswerten der Versuche von Tabelle 1 kann deshalb überhaupt nicht erwartet werden.

Was das Chlorophyllverhalten der geimpften Blätter anbetrifft, so zeigt der Chlorophyllgehalt der immunen Sorte Spaldings prolific

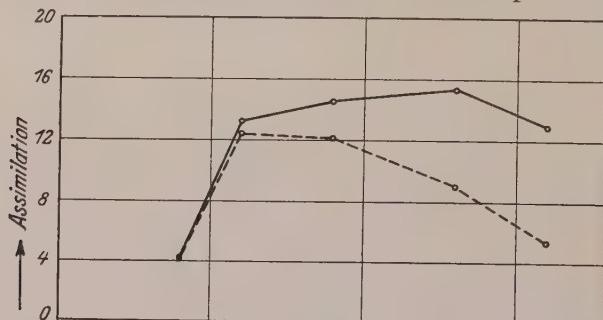


Abb. 8.

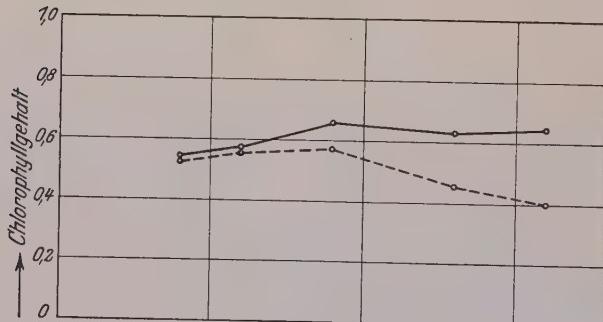


Abb. 9.

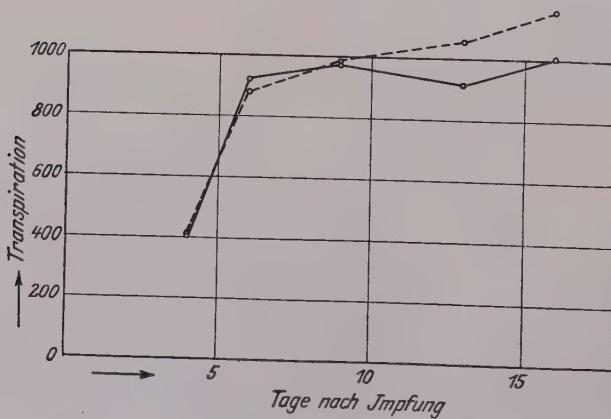


Abb. 10.

— ungeimpft      - - - - - geimpft.

Abb. 8–10. Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration ungeimpfter und mit Gelbrostrasse 6 geimpfter Blätter von Strubes Dickkopf-Weizen.

(Abb. 4) keine Veränderungen gegenüber den nicht geimpften Blättern. Im Gegensatz hierzu finden wir bei allen anderen Sorten ein Zurückgehen des Chlorophyllgehaltes als Folge der eingetretenen Infektion. In der mit Kraffts Dickkopf durchgeföhrten Versuchsreihe (Infektions-Typus 0—II, Abb. 5) machen sich stärkere Schwankungen der Chlorophyllwerte geltend, die vielleicht damit im Zusammenhang stehen, daß

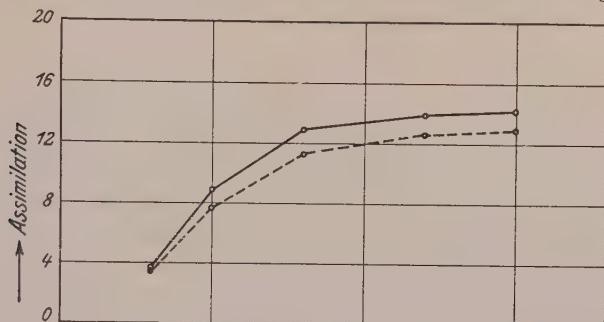


Abb. 11.

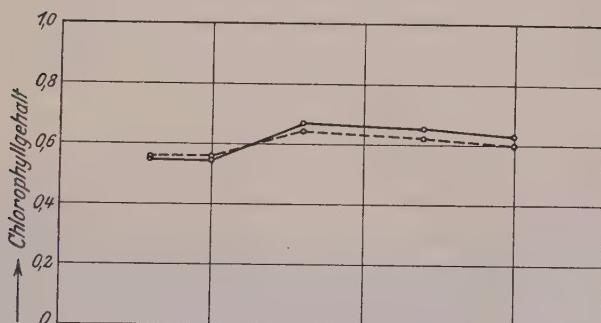


Abb. 12.

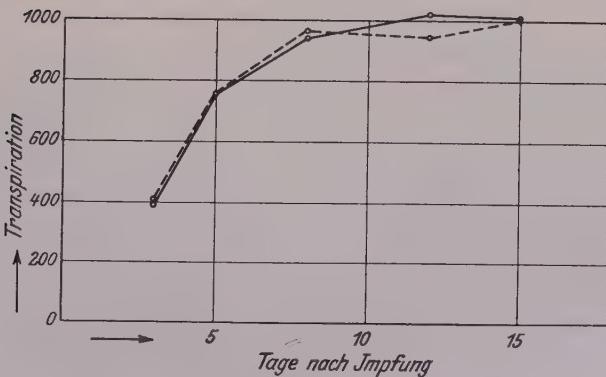


Abb. 13.

— ungeimpft — — — geimpft.

Abb. 11—13. Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration ungeimpfter und mit Gelbrostrasse 18 geimpfter Blätter von Strubes Dickkopf-Weizen.

der Infektionserfolg bei hochresistenten Sorten nicht immer so gleichmäßig ist wie bei anfälligen. Immerhin zeigen die gefundenen Werte, daß auch bei hochresistenten Sorten die Infektion die Chlorophyllmenge je Blatteinheit zum Sinken bringt. Gleichmäßiger ist der Abfall der Chlorophyllwerte bei den beiden anfälligen Sorten; bei Michigan Bronze (stärkster Befall mit Infektionstypus IV) ist bereits sieben Tage nach der Impfung eine deutliche Abnahme des Chlorophyllgehaltes erkennbar.

In der Versuchsreihe von Tabelle 3 sind Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und die als Maßstab des Gasaustausches benutzte Transpirationsgröße an denselben Blättern gleichzeitig festgestellt, um die wechselseitigen Beziehungen dieser Größen im einzelnen vergleichen zu können. Die Versuchsdurchführung unterscheidet sich von den früheren Versuchen weiter dadurch, daß nicht verschiedene Weizensorten untersucht wurden, sondern daß die gleiche Weizensorte mit zwei verschiedenen Gelbrostrassen beimpft wurde, um so verschiedene Infektionsbilder zu erzeugen. Als Weizensorte wurde Strubes Dickkopf gewählt, als Gelbrostrassen die Rassen 6 und 18 verwendet. Strubes Dickkopf ist gegen Rasse 6 hochanfällig (Infektionstypus IV), gegen Rasse 18 immun Typus i, (vergl. Gaßner und Straib, 6). Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 3 zusammengestellt und in den Abbildungen 8 bis 12 graphisch wiedergegeben.

Die ungeimpften Blätter (siehe Abb. 8 bis 13) zeigen während der Versuchsdauer (14 bis 27 Tage nach Aussaat) zunächst einen starken, dann schwächeren Anstieg der Assimilationswerte, denen ein entsprechender Anstieg der Transpirationswerte parallel geht; der Chlorophyllgehalt zeigt im Anfang eine schwache Erhöhung und bleibt dann während der weiteren Versuchsdauer unverändert. Zu einem Abfall der Assimilations-, Transpirations- und Chlorophyllwerte kommt es während der Versuchsdauer von 26 bis 27 Tagen nicht oder nur in einem Fall, so daß also Stickstoffmangelerscheinungen sich in dieser Versuchsreihe nicht oder kaum bemerkbar machen. Der Grund hierfür liegt in der Wahl des verwendeten Bodens sowie in den während des Versuches herrschenden Licht- und Temperaturverhältnissen (3, 4).

Die Impfung von Strubes Dickkopf mit der Gelbrostrasse 18, der gegenüber dieser Weizen immun ist, beeinflußt weder die Assimilationsgröße noch den Chlorophyllgehalt noch das Transpirationsverhalten wesentlich (Abb. 11 bis 13). Alle Kurven zeigen deutliche Übereinstimmung zwischen geimpften und ungeimpften Blättern. In Assimilation und Gasaustausch liegt eine schwache Depression der Werte der geimpften Blätter vor.

Nach Impfung mit der für Strubes Dickkopf hochaggressiven Gelbrostrasse 6 zeigen Assimilation und Chlorophyllgehalt noch vier und sechs Tage nach der Impfung gleiche Werte. Nach neun und

mehr Tagen sinken die Chlorophyllwerte der geimpften Blätter deutlich ab, was ein Heruntergehen der Assimulationswerte zur Folge hat. Wenn dies verhältnismäßig stärker ist als der Rückgang des Chlorophyllgehaltes, so dürfte auch hier wieder die Tatsache in erster Linie in Rechnung zu stellen sein, daß wir ja nicht die absolute Assimilation, sondern nur den Assimilationsüberschuß erfaßt haben, und daß die Atmung des sich in den Blättern entwickelnden Pilzmyzels die Ergebnisse verschleiert. Leider war es uns nicht mehr möglich, die Bedeutung dieses Faktors durch Atmungsbestimmungen näher zu erfassen.

Von besonderer Bedeutung ist nun aber die Feststellung des Transpirationsverhaltens. Bei normalen, also ungeimpften Blättern verläuft die Transpirationskurve der Assimilationskurve weitgehend parallel, was mit den Ergebnissen unserer früheren Untersuchungen übereinstimmt und im übrigen auch aus den hier wiedergegebenen Versuchen mit ungeimpften Blättern hervorgeht. Wir haben deshalb früher (3, 4) von einer gleichsinnigen Beziehung Transpiration zu Assimilation sprechen können.

Ganz anders ist nun das Assimilationsverhalten und Transpirationsverhalten von Blättern, die mit einer aggressiven Gelbrostrasse geimpft sind; hier fällt wohl die Assimilationskurve (Abb. 8) stark ab, die Transpiration aber steigt an und erreicht Werte, die deutlich über den Transpirationsgrößen ungeimpfter Blätter liegen (Abb. 10). Die sonst gleichsinnige Beziehung Transpiration: Assimilation ist also hier in das Gegenteil verkehrt.

Der Grund für diese auffallende Erscheinung liegt sicherlich darin, daß wir bei der Transpiration der im Luftstrom der Assimilationskammer befindlichen Blätter nicht nur die Wasserabgabe der Blätter selbst erfassen, sondern im vollen Umfange natürlich auch die Wasserabgabe des Pilzes. In der Zeit, in der wir den abnormalen Anstieg der Verdunstungsgröße beobachten können, ist die Fruktifikation des Pilzes in vollem Gange; die aus dem Blatt hervorbrechenden Myzelien und Sporenmassen geben offensichtlich reichlich Wasser ab, bevor die Sporen zu voller Reife kommen. Diese Wasserabgabe muß es in erster Linie sein, die wir bei den hohen Transpirationswerten solcher Blätter mit erfassen.

Damit sind zwei wichtige Feststellungen gemacht. Zunächst einmal erkennen wir, daß wir die Verdunstungsgröße von Blättern, die fruktifizierende Pilze tragen, nicht als Maßstab des Transpirationsverhaltens der Blätter selbst benutzen und daraus Rückschlüsse auf die Beziehungen des Transpirationsverhaltens zur Assimilationsgröße ziehen dürfen, wie das bei gesunden Blättern in weitestem Umfang der Fall ist.

Zum andern aber finden wir die für die Beurteilung der Wirkungen des Rostpilzes auf die Nährpflanzen wichtige und bereits von *Galloway* (1), *Reed* und *Crabil* (7), *Weaver* (8) und *Weiß* (9) festgestellte Tatsache

bestätigt, daß Blätter mit fruktifizierenden Rostpilzen eine gesteigerte Wasserabgabe, also einen besonders hohen Wasserbedarf haben. Das erklärt einmal die bekannte rostfördernde Wirkung hoher Feuchtigkeit von einem bisher nicht genügend berücksichtigten Gesichtspunkt aus; es zeigt aber weiter, daß der Rostpilz die Pflanzenentwicklung nicht nur dadurch ungünstig beeinflußt, daß die Assimulationsgröße infolge der Chlorophyllzerstörungen herabgesetzt und der Pflanze wichtige Abbaustoffe entzogen wurden. Vielmehr müssen wir aus der Steigerung des Wasserverlustes durch fruktifizierende Rostpilze den weiteren Schluß ziehen, daß gleichzeitig die Wasserbilanz solcher Pflanzen ungünstig beeinflußt wird. Da eine ausreichende Wasserversorgung die Grundlage einer normalen Assimilationstätigkeit ist und jede Verschlechterung der Wasserverhältnisse infolge unzeitigen Spaltöffnungsschlusses zu einer Herabsetzung der Assimilationstätigkeit führt, so muß in der bisher kaum berücksichtigten Nebenwirkung fruktifizierender Rostpilze auf den Wasserhaushalt der Pflanze ein Moment liegen, das wir bei der Beurteilung der durch Rostbefall bewirkten Ertragsdepressionen der Pflanzen nicht außer Acht lassen dürfen.

### Zusammenfassung.

Die vorstehenden Untersuchungen bezweckten die Klarlegung der Frage, in welchem Umfang Rostinfektionen Assimulationsgröße, Chlorophyllgehalt und Transpirationsverhalten der Blätter beeinflussen. Die Versuche sind mit Weizenblättern so durchgeführt, daß nebeneinander nicht geimpfte Blätter und solche zur Prüfung kamen, die verschiedene Infektionsarten zeigten.

Impfung mit einer Rostrasse, die Infektionstypus i (= immun) bedingt, bewirkt keine Beeinflussung des Assimulationsverhaltens, des Chlorophyllgehaltes und der Transpirationsgröße.

Impfung mit Rostrassen, die äußerlich erkennbare Infektionsbilder hervorrufen, bewirkt in allen Fällen ein deutliches Abgleiten von Chlorophyllgehalt und Assimulationsgröße. Dieses Absinken beginnt etwa am 7. Tage nach der Impfung. Der auftretende Infektionstypus ist dabei von untergeordneter Bedeutung, indem die Herabsetzung von Chlorophyllgehalt und Assimulationsgröße sich sowohl bei resistentem wie bei anfälligen Typus in annähernd gleicher Weise kundtut.

Das Transpirationsverhalten der geimpften Blätter zeigt bei hohem Infektionstypus (IV) starke Unterschiede von demjenigen ungeimpfter Blätter. Während bei diesem die Transpirationskurve der Assimulationskurve weitgehend parallel verläuft, zeigen die infizierten und mit fruktifizierenden Sporenlagern bedeckten Blätter bei stark fallender Assimulationskurve einen deutlichen Anstieg der Transpirationswerte. Die Erklärung für dieses Verhalten dürfte in der Wasserabgabe des Pilzes liegen. Die gemachten Feststellungen zeigen, daß wir die durch fruktifizierende Rostpilze bedingte

## Verschlechterung der Wasserbilanz der Getreidepflanzen mit zur Erklärung der durch Rostbefall bedingten Ertragsminderung heranziehen müssen.

---

Die vorstehenden Untersuchungen konnten aus äußeren Gründen nicht so weit ausgebaut werden, wie es in unserer Absicht gelegen hatte; insbesondere ließen sich Wiederholungsversuche, vor allem solche mit anderen Rostarten, nicht mehr durchführen.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sei für die gewährte Unterstützung unserer Arbeiten herzlich gedankt.

---

### Literatur.

1. Galloway, B. T. A rust and leaf casting of pine leaves. Bot. Gaz. 22, 1896, 433.
  2. Gaßner, G. und Goeze, G. Über den Einfluß der Kalibernährung auf die Assimulationsgröße von Weizenblättern. Berichte der Deutschen Botanischen Ges., 50 a, 1932, 412—482.
  3. Gaßner, G. und Goeze, G. Assimulationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. Zeitschrift für Botanik, 27, 1934, S. 257—340.
  4. Gaßner, G. und Goeze, G. Die Bedeutung des Kalium-Stickstoffverhältnisses im Boden für Assimilation, Chlorophyllgehalt und Transpiration junger Getreidepflanzen. Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, A 36, 1934, 61—85.
  5. Gaßner, G. und Straib, W. Untersuchungen über die Infektionsbedingungen von *Puccinia glumarum* und *Puccinia graminis*. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, XVI, 1928. 609—629.
  6. Gaßner, G. und Straib, W. Weitere Untersuchungen über biologische Rassen und über die Spezialisierungsverhältnisse des Gelbrostes *Puccinia glumarum* (Schm., Erikss. und Henn.). Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bd. 21, 121—145.
  7. Reed, H. S. and Crabil, C. H. The cedar rust of apples caused by *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. Virginia agr. exp. stat. techn. bull., IX, 1915.
  8. Weaver, J. E. The effect of certain rust upon the transpiration of their hosts. Minn. bot. stud., V, 1916, 379.
  9. Weiß, F. The effect of rust infection upon the water requirement of wheat. Journ. agr. res., 27, 1924, 107.
- 

### Nachschrift.

Während der Drucklegung der vorstehenden Mitteilung erhielten wir Kenntnis von drei neueren Arbeiten, die annähernd gleichzeitig mit unseren Untersuchungen durchgeführt sind und die von uns behandelten Fragen aufs engste berühren.

Die Mitteilung von Murphy<sup>1)</sup> enthält eine Bestätigung unserer Feststellungen über die erhöhte Wasserabgabe rostiger Getreideblätter.

---

<sup>1)</sup> Murphy, H. C. Effect of crown rust infection on yield and water requirements of oats. Journ. of Agr. Research, 50, Nr. 5, 1935, S. 387—411.

Die mit Kronenrost auf Hafer durchgeführten Versuche ergaben, daß hochrostige Pflanzen für die Einheit des Trockengewichtes 290,8% mehr Wasser benötigen als rostfrei; das Verhalten der Pflanzen in verschiedenem Wassergehalt des Bodens zeigt ebenfalls den erhöhten Wasserverbrauch rostanfälliger Selektionen.

Die Arbeiten von Kokin und Toomarinson<sup>1)</sup> beschäftigen sich mit dem Assimilationsverhalten rostinfizierter Getreideblätter. Die Versuche sind mit Hafer und *Puccinia coronifera* zur Durchführung gekommen; die Bedeutung des Chlorophyllgehaltes für den Assimilationseffekt ist ebenfalls berücksichtigt. Die Ergebnisse liegen in der gleichen Richtung wie unsere eigenen Feststellungen. Die Versuche sind nur mit einer anfälligen Hafersorte durchgeführt, sodaß die Bedeutung des Infektionstyps für Assimilation und Chlorophyllgehalt nicht untersucht ist, wie auch die Frage der Transpirationsbeeinflussung sowie das Verhalten der Blätter während der Inkubationszeit keine Berücksichtigung gefunden haben; dagegen suchten die Autoren ihre Feststellungen dadurch auf eine breitere Basis zu stellen, daß sie die Assimilations- und Chlorophyllbestimmungen auch auf ältere vergilbende Blätter ausdehnten.

---

<sup>1)</sup> Kokin, A. J. and Toomarinson, Chr. S. The physiological basis of the injuriousness of oat rust. Bull. of plant protection. II. Ser.: Phytopathology, Nr. 6, 1934. Leningrad.

Toomarinson, Chr. S. On the physiological basis of scales for estimating the injuriousness of rust. Ebenda 1934.

**Institute of Genetics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow.**  
Director: N. I. Vavilov.

---

## **Virus and Genic Reactions in Morphogenetic, Physiogenetic, and Phylogenetic Aspects.**

By  
Professor Dontcho Kostoff.

With 12 Figures.

The development of the experimental and descriptive biological sciences during the last three decades is so rapid and the accumulation of differential data in these fields of science is so enormous that it is quite impossible or, better, it is very difficult for the biologists to keep in contact even with the main trends of each orthodox subdivision. This is because the analytic studies develop, so to say, normally, while there is a lack of synthesis. Synthesis is lacking especially in the so-called "border line" (*Grenzgebieten*) branches of the biological sciences. Such is the case with the border line between virology and genetics.

It is true that lack of general integrity in biology as in the other natural sciences is often the cause for spending an enormous amount of time and energy on experimenting in certain directions without attaining a satisfactory reward. When integrating, new hypotheses and theories arise which can further stimulate research work. We see then much more clearly what has been done and what should be done next when we synthesize and compare the achievements in two neighboring fields of study, than in reviewing all data known in a definite branch of science. Having this for a starting point, we took up virology and genetics and are attempting to compare or oppose some of the main facts characterizing the principal units of these two sciences, namely those of the virus and those of the gene.

Every virologist knows what a virus is and how it acts as does every geneticist know what a gene is and how the genes act, according to the present status of both sciences. A comparative study and discussion upon the nature and activity of the viruses and the genes has not yet been presented. We shall make here this attempt, presenting at the same time

some new observations, while we shall give a more detailed discussion of the same subject elsewhere at a later time.

The first and principal questions will be: What is a virus and what is a gene? Have they something in common? Both virus and gene are of ultramicroscopic magnitudes, and since nobody has seen them yet we judge of their nature from the effects they produce in the organism.

Some pathologists believe that the virus should have an enzymatic nature. But since it reproduces itself thousands and even millions of times in a tobacco organism (for example) and all this occurs in a period of only several weeks it should then be an "autocatalytic" substance with definite structure which is able to reproduce itself exactly as it is millions of times. This trend of thought will have more solid background if the recent communication by Stanley (1935) about the "isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic-virus" is confirmed by other investigators. Stanley (1935) reported that the isolated protein crystals from infected tobacco by mosaic-virus have the same properties that tobacco mosaic virus has. Hence, "Tobacco-mosaic virus is regarded as an autocatalytic protein" (Stanley 1935, p. 645).

Geneticists also claim that genes are autocatalysators (Goldschmidt, Alexander and Bridges, Muller). It is also said that genes are protein molecules or group of molecules (Demerec, Timoféeff-Ressovsky, Zimmer and Delbrück, Koltzhoff etc.).

Discussing the problem of the primal living unit, Alexander and Bridges (1928) assumed that such a unit should be a catalytic particle of dual activity which can "on part of its area, conduct a continuous catalysis (either analytic or synthetic) and can in another part of its area conduct a reproductive catalysis." Defining the primal living unit as a "self-perpetuating and self-duplicating catalytic particle", they asked: "Is there such a relatively simple self-duplicating catalytic particle?" The answer was: "Our present knowledge indicates that in bacteriophages, in some ultrafiltrable viruses, in genes or gene elements, we have biological units approaching this degree of simplicity" (p. 17). If one agrees with Alexander's and Bridges' definition of the primal living unit, then the property of the tobacco-mosaic-virus (protein crystals) described by Stanley and mentioned above should not be considered as an obligatory attribute of the non-living, because we have not the right to assume that a protein molecule should not ultimately have the property of a "self-perpetuating and a self-duplicating particle". In other words, viruses (protein molecules), aggregating into a form known for specific as the non-living, have the specific character of the living. Is not there the bridge between "living" and "non-living"?

At first sight it seems that viruses and genes belong, or rather, should belong to one and the same physico-chemical category of particles.

Even the size of viruses is similar to that of the genes. The size of the tobacco virus No. 1 is 45—70 millimicrons, according to Bechhold and Schlesinger, 40 millimicrons according to Klebahn, and 30—35 millimicrons according to Dugger and to Thornberry. According to Price, X-virus has a diameter of 200 millimicrons, while that of Y-virus is about 250 millimicrons. The diameter of a bacteriophage is, according to d'Herelle, 20—30 millimicrons. Zinsser and Tang are inclined to admit that bacteriophages and virus of Rous' sarcome have a diameter of between 20 and 100 millimicrons. The size of the genes in *Drosophila* was



Fig. 1.

Leaves from *Nicotiana tabacum*.

a) from normal non-infected plant.

b—l from plant infected with mosaic, the latter being deformed.

also estimated by various investigators. Morgan reported three calculations, 20, 60 and 70 millimicrons. Muller estimated it about 50 millimicrons, Blackwood 20, Gowen and Gay about 10 millimicrons. The latter workers suggested also a comparative size of the gene; i. e., the gene is as large as 15 protein molecules. It should also be mentioned here that the methods for determining the size of the genes are such that they give the upper limits. They are not exact, but are still good enough for an orientation.

Genes are linearly arranged into the chromosomes of each cell, while viruses spread after inoculation gradually intercellularly, intracellularly or by the blood circulation in animals and sap movement in plants into the whole organism.

The organism develops usually normally and forms normal organs and characters (i. e., specific for each small taxonomic unit) when its genic complex is "well-balanced" and active in a definite milieu. If the genic

balance is disturbed in some way, the organism develops abnormally. The realization of the morphological character as well as the characteristic physiological behavior of each organism is directed by the genic complex, while the end results are always products of genes + environment. Noting the great significance of the milieu we shall not repeat it again in our further discussion, assuming that all processes occur at one and the same environment optimal or nearly so for the organism.

Each differential part of the living organism (consequently the organism as a whole, too) is a product of the formative and assimilatory-dissimilatory processes directed by genes. The processes directed by the genes can be expressed roughly in physiological-biochemical reaction systems, each system representing a chain of biochemical reactions, each reaction involving substances introduced from outside or formed in the organism during earlier reactions or both, and giving substances for the next reactions of the same system as well as for reactions of other systems.



Fig. 2

A tobacco branch, the older leaves (down) normally developed, while the upper ones are narrow, because they have been formed after the infection of the plant by virus. In other words virus is responsible for the formation of narrow leaves.

This is a large and very important problem that can be solved only by collective work of geneticists, biochemists and biophysicists. The reactions for which genes are responsible will be called genic reactions. Each specific combination of genes does condition definite reactions and reaction systems. Environment may influence the trend of reactions, but only in some limits (the variation amplitude).

We do not yet know exactly the intimate rôle of the genes in these reactions; how much they participate directly in the reactions and how much they catalyze reactions on account of environment substances (cytoplasm and its inclusions).

When an organism is infected by a virus the normal trends of the genic reaction systems seem very often to be changed. We can judge of them from the end results of the reaction systems. When, for example, a "female sterility virus" (Kostoff 1933) infects a *N. tabacum* plant, the styles of the plant get reduced from about 40 mm to about 4—5 mm or even less, while the ovary, on the contrary, from about 5—7 mm (at the time of flowering) gets elongated sometimes to 15 mm or even more. What does that mean? If the end product is so distinctly changed, it means that the processes have proceeded differently, the formative reactions have proceeded quite differently; here the morphological character is a quantitative one, but in other cases it may be a qualitative one too. What can be responsible for these phenomena, the virus as substance or its products? This question cannot be definitely answered now, but it is possible that both of them participate. One thing is clear, namely, that when the virus is present in the plant, the genic reactions proceed differently, either on account of the virus substance and its derivatives being utilized in genic reactions or the virus alone directs or deviates (like the gene does) reactions, reaction systems and processes. It seems probable that both these possibilities occur parallel. The observations made upon the infected tobacco plants with virus diseases that cause malformations involving various organs make this suggestion very probable. Before developing our further discussion upon the virus and genic reactions a few words should be said about the disease known in English literature under the name "frenching" and in Dutch literature under the name "Tjemara". The latter name is used in Java. The native in Java calls *Casuarina equisetifolia* by the name "Tjemara" (Schweizer 1933). Frenching disease in tobacco is characterized by formation

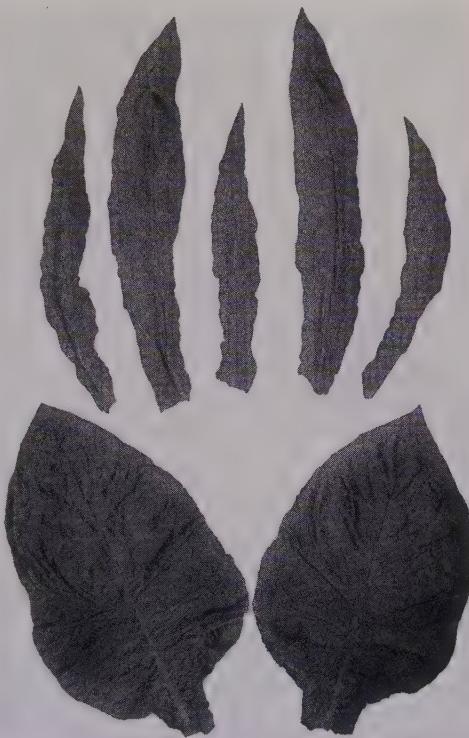


Fig. 3.

Down normal broad leaves from a tobacco plant, above - long narrow leaves from the same plant formed at the top after infection by virus (compare fig. 2). Virus is responsible for the formation of narrow leaves.

of narrow leaves which are similar to those of the *Casuarina* tree, therefore the natives have given the same name to this disease. Java is a colony of Holland and "Tjemara" will be found in Dutch or German but not in English. (The transliteration in English should perhaps be "Tyemara".) This name is introduced into Dutch literature by the Dutch scientists who work in Java. It is also called in Java "Tjakar" (chicken foot) because sometimes numerous thin long narrow leaves very much



Fig. 4.

Hybrids *Nicotiana glauca* ( $n = 12$ )  $\times$  *Nicotiana Langsdorffii* ( $n = 9$ ).

Left—an amphidiploid with 42 somatic chromosomes; right—a chromosomal aberrant of the same cross combination with narrow leaves having 23 somatic chromosomes. In this case genes are responsible for the narrow leaves.

like chicken foot are formed at the top of the plant (Schweizer 1933, Raciborski 1898).

We should first say a few words about the symptoms of the disease called "frenching" (Tjemara, tjakar) and then give a short outline of the causes. We say causes, because there is no doubt that there is more than one cause. Frenching or strap-leaf disease was described by Anderson, Swanbock and Street (1931) in the following way:

"The leaves are thick, narrow and strap or sword-shaped, and have wavy, scalloped or crineled margins. In severe cases all the leaves on a plant are affected; in less severe instances the lower leaves are normal or partly so, showing that the attack occurred after the plants were partly grown. In such cases... the plant stalk fails to elongate properly and the

whole plant appears as a bush of dagger-like leaves in abnormally large numbers set very close together. This appearance may be intensified by abnormal branching of the stalk. Such plants never reach the normal height." Chlorosis or fading of the green color has not been noticed, therefore there is "no indication of nitrogen starvation". They believe that the disease is not infectious and that "it is not associated with parasitic fungi, bacteria, or insect attacks. It is probably malnutrition



Fig. 5.  
Leaves from hybrids.

From left to the right: a normal broad leave from normally developed amphidiploid *Nicotiana glauca*  $\times$  *Nicotiana Langsdorffii*, three small narrow leaves from a *Nicotiana glauca*  $\times$  *Nicotiana Langsdorffii* chromosomal aberrant with 23 somatic chromosomes (compare Fig. 4 and 6), a broad normal leaf with long petiole from a hybrid (back cross) *Nicotiana rustica* ( $n = 24$ )  $\times$  *Nicotiana glauca* ( $n = 12$ )  $\times$  *Nicotiana rustica* ( $n = 24$ ) with 60 somatic chromosomes, and finally (at right), two narrow deformed leaves from a plant of the same back cross but the plant from which the latter leaves were taken had 58—59 somatic chromosomes. In all these cases genes are responsible for the formation of narrow leaves.

trouble." But they have not carried out special experiments to show that it is not infectious.

Frenching (Tjakar) was found by Raciborski in Middle Java as early as 1898. He suggested that nutrition deficiency is perhaps the cause for it. Sprecher (1914) and Jensen (1921) on the other hand considered this disease as infectious, like the mosaic diseases. Jensen reported that plants showing the disease can be cured by transplanting them from one place to another.

J. Johnson (1924) suggested that frenching appears probably in connection with "excessive water", "soil fertility" and finally, "weather conditions", while later on Valleau and E. Johnson (1927) believed that frenching is caused exclusively by "nitrogen deficiency". They claimed that they have produced frenching in sand cultures.

Wolf and Moss (1919) believed that tobacco frenching is due to "excessive soil moisture" and "excessive amount of commercial fertilizer". But they further added that on the Tobacco Experimental Farm at Oxford, N. C., all of the plants which had received no fertilizer, practically were frenched; therefore the cause here, they believe, is "mineral deficiency".

Garner (1929) claimed that the disease is not infectious and is due to some unfavorable condition of the soil. He also noted that the disease may occur at any stage of development and often only the upper part of the plant is affected. He believed that drainage is a contributory cause of the disease and that deficiency of food may cause such symptoms.

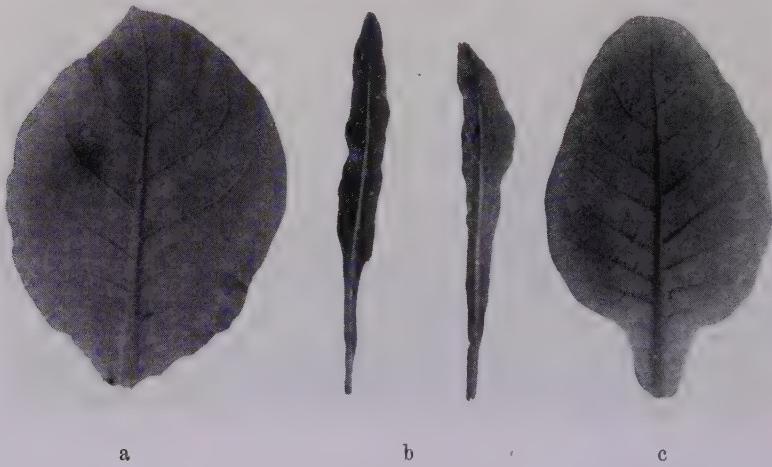


Fig. 6.

Leaves from three sister plants of the second generation of the cross  
*Nicotiana triplex* ( $n = 24$ )  $\times$  *Nicotiana sylvestris* ( $n = 12$ ).

a: a normal leaf from a plant with  $2n = 48$  similar to *Nicotiana triplex*.  
 b: two narrow leaves from a plant with 31 somatic chromosomes and c: normal leaf from a plant with 24 somatic chromosomes similar to *Nicotiana sylvestris*. In this case genes are responsible for the formation of narrow leaves.

Hopkins (1930) also believes that he has supplied evidence that "frenching in tobacco is a nitrogen deficiency disease", while Karraker and Valleau (1930) wrote: "It now appears less probable that frenching of tobacco is directly caused by a deficient supply of nitrogen." They found certain relations between the liming of the soils and frenching.

In the report of the Director of the Kentucky Agricultural Experiment Station for 1930, p. 24, it is considered as probable that "frenching of tobacco in the field is nearly always associated with phosphorus or potassium deficiency when it occurs in the early part of growth of the plant, and that when associated with nitrogen deficiency it occurs only in the later growth of the plant".

Anderson, Swanbock and Street (1931) concluded that "obviously we are still much in the dark with respect to a true explanation of the cause of this disease".

More recently frenching (Tjemara) was studied by Schweizer (1933). He gave the following conclusions: "Tjemara-Krankheit bei Tabak ist eine sog. physiologische Krankheit; die Ursache davon ist keine N-Mangelerscheinung, sondern sehr wahrscheinlich eine Vergiftungserscheinung. Die Krankheit ist nicht infektiös und durch sehr verschiedene mechanisch-physikalische Faktoren (Feinstampfen und Durchlüftung des Bodens) und chemische Faktoren (N-Düngung, Nährung, KMnO<sub>4</sub>) zu genießen" (p. 27).

If we summarize all the factors mentioned by various authors which cause frenching of tobacco (Tjemara) the following list can be made:

1. Virus disease.
2. Poisoning (physiological disease).
3. Nutrition deficiency.
4. Excessive water.
5. Soil fertility.
6. Nitrogen deficiency.
7. Phosphorus or potassium deficiency.
8. Liming of the soil.
9. Weather conditions.

All these factors may be reduced to the following ones:

1. a) Virus disease.  
b) Physiological disease.
2. Malnutrition.
  - a) Excessive water.
  - b) Deficiency of nitrogen, phosphorus, potassium.
  - c) Liming of the soil.
3. Weather conditions.

There is no direct evidence that weather conditions may cause tobacco frenching.

Which of these causes is responsible for tobacco frenching? Or is each of them responsible for frenching?

We studied numerous plants that showed various degrees of frenching cytogenetically, and tested them for the presence of virus disease. It turned out that all of the plants studied which showed frenching may be divided into two groups: 1) plants infected with virus, 2) chromosomal aberrants without virus. In other words, two quite different causes may be responsible for similar symptoms: 1) viruses and 2) genes.

We have not found plants which showed the symptoms of frenching without one of these elements. (This does not mean, of course, that some of the other above-mentioned agents cannot induce frenching in tobacco.)

Some of them were chromosomal aberrants (figs. 4, 5, 6, 7, 9, 10), while those that had normal chromosome numbers were infected with virus. The latter was tested three times and in the following way. Plants with symptoms like those in fig. 2, 3 with normal leaves at the lower part of the stems and narrow leaves on the upper part of the stems were propa-



Fig. 7.

Plants of the composite hybrids *Nicotiana rustica*—*tabacum*—*glauca*.  
Left No. 97/1; middle No. 97/6; right No. 97/8.

gated by cuttings. After rooting them we grafted upon them shoots from normal plants (with normal leaves) of the same variety. The scions showed no striking symptoms during the same year, but in spring (after wintering in the greenhouse) all of the scions grafted upon frenched stocks formed narrow leaves at the top. The controls — normal grafted on normal by sterile knife cuttings — showed no symptoms of frenching. This experiment showed that in our case frenching can be transmitted by grafting, but the spreading of the virus is very slow.

Plants having frenching occurred rarely, like those having female sterility virus (Kostoff 1933). They usually appeared as single plants among the normal ones.

The first conclusion that should be drawn here is: Frenching is a collective conception. The symptoms of frenching (chiefly formation of narrow leaves) can be conditioned by two factors: 1) virus (figs. 2, 3), 2) disturbed genic balance (figs. 4, 5, 6, 7, 9, 10). We are not sure whether there is some other factor except the above-mentioned ones that might cause frenching, as, for example, nutrition. The recovery from the disease of frenching when the plants are transplanted or when they receive some fertilizer, as some authors have observed, is probably due to the induction of a rapid plant growth and at the same time a slow spreading out of the virus. Immunological phenomena



Fig. 8.

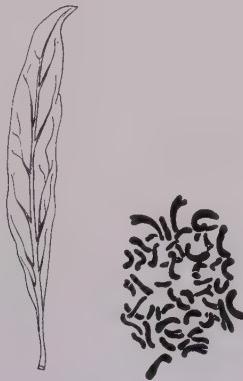


Fig. 9.



Fig. 10.

Fig. 8. Mitotic metaphase with 54 chromosomes from plant 97/1 and a leaf of the same plant.

Fig. 9. Mitotic metaphase from plant 97/6 with 52 chromosomes and a leaf of the same plant.

Fig. 10. Mitotic metaphase with 46 chromosomes from plant 97/8 and a leaf of the same plant.

might also have been responsible for suppressing the spreading of the virus. (At the same time we do not deny that other factors except the above-mentioned two, might induce typical symptoms of frenching, which we have not yet come across.) In our cases virus conditions similar symptoms in the plant organism like the genes do.

The good genic balance in an amphidiploid *N. glauca-Langsdorffii* is created when the plants have 42 somatic chromosomes, i.e. two whole genomes of *N. glauca* and two of *N. Langsdorffii*. Some of the chromosomal aberrants of *glauca-Langsdorffii* hybrids, as that with 23 somatic chromosomes have a disturbed genic balance and narrow leaves similar to frenching (figs. 4, 5).

The plants with 60 chromosomes having two complete genomes of *N. rustica* ( $24+24$ ) and one of *N. glauca* (12) develop normally, while the plant of the same crossing in which one or two chromosomes are missing (with 58—59) forms leaves typical of frenching. Trisomics and tetrasomics, i. e. plants having one or two chromosomes more than the normal, also often have narrow leaves that are characteristic of frenching. In all these cases we have definite quantitative and qualitative changes in the genic reactions which lead to deformations, typical of frenching. Virus reactions, when frenching is caused by viruses, deviate the normal trends of the genic reactions in the genetically balanced but infected plants and the end products mask those caused by disturbed genic balance. Mutual relations between genic reactions, virus reactions and end result (narrow leaves, as in frenching) can be diagrammatically expressed in the following way:



Some virus diseases merely deform the leaves. Here we have disorganization of the genic reaction systems responsible for the formative processes of the leaves, by the interference of the virus reactions (fig. 1). Similar deformation can be caused simply by disturbed genic balance. Plants with deformed leaves often occur among those seedlings of which the parental gametes are treated by X-rays. Plants with deformed leaves also appear amongst the progenies of interspecific and intergeneric hybrids, especially when the parents have different chromosome numbers (figs. 4, 5, 6, 7, 9, 10).

There are virus diseases that affect the whole plant (1), like tobacco mosaic disease, i. e. stem, leaves and even flowers; others affect only definite organs (2) of the plants with no or insignificant effect upon the other organs; and finally, such that are present in the plant but of which the plant does not manifest any symptoms (3) the virus being masked (female sterility virus in *N. glauca*). The first two types of symptoms may have various degrees of intensity, depending upon the concentration of the virus. (This can be influenced by the environmental conditions.)

Genes act in a similar way. A gene conditioning the appearance of certain color may affect almost all the organism as those, for example, that are responsible for the presence of anthocyanin in stem and leaves and at the same time for red color in the flowers (*Pisum*). Other genes affect only definite organs or characters with insignificant or no effect on the other organs and finally, genes can be in a recessive condition without manifesting their presence. Environmental factors may also intensify or suppress the effect of the genes in realization of the characters.

Gene or genes of one species can also direct reactions into another species of the same genus or of another closely related genus. Genes can be transmitted by interspecific or intergenic hybridization. Virus, on the other hand, can direct reactions in very far related organisms. Virus can be transmitted from cucumber (*Cucurbitaceae*) to potato (*Solanaceae*), or even from a plant organism into an animal organism.

On the other hand, some viruses may infect severely one variety of one species but not so much another variety of the same species (Nolla and Rogue 1933).

Viruses may interact with genes, or in other words, the mutual interference between the virus and genic reactions may result in a localization of the spreading of the virus. Holms' experiments (1934) in *Capsicum* and *Nicotiana* showed that a single (dominant) gene is responsible for the localization of the tobacco mosaic virus; in other words, the reaction system directed by a single gene can localize the spreading of tobacco mosaic virus.

Genes change, i.e. they mutate and then become again stable, for some time. Some pathologists believe that viruses mutate too, although unquestionable evidence of this phenomenon is still lacking. McKinney (1929—1935), for example, believes that yellow tobacco mosaic is a mutant from the light green tobacco mosaic.

When tobacco plants were inoculated by McKinney (1935) with a mixture of yellow and common mosaic, but the former being 999 times more concentrated than the latter, the plants developed first symptoms of yellow mosaic and after 47 days the young leaves were showing symptoms of common mosaic. In the experiments in which the mixture contained 499 parts and 99 parts yellow mosaic to one part common mosaic they also developed first yellow mosaic and then afterwards common mosaic, but the latter appeared earlier than 47 days. Plants having yellow mosaic were reinoculated by him with common mosaic. The plants continued to form yellow leaves, but after a certain time the common mosaic appeared and covered the yellow one. All these experiments showed that when plants are inoculated with yellow and common mosaic, the plants show the symptoms of the common mosaic. This phenomenon was interpreted in terms of immunity to the virus of the common mosaic acting as a "vaccine" in the plant so that the appearance of the yellow mosaic is inhibited.



Fig. 11.  
*Nicotiana Langsdorffii*  
plant with variegated (with white and yellowish areas) leaves. Genic activity is responsible for this variegation, but similar phenomena may be induced by virus too.

Mutual behavior between common and yellow mosaic in tobacco recalls the mutual behavior between dominant genes and the recessive ones and between epistatic genes and hypostatic ones respectively. Their mutual behavior fits excellently to Goldschmidt's scheme (1927) explaining the activity of strong and weak genes, the former catalyzing more substances and the realization of the characters for which the stronger genes are responsible occurs much earlier than those for which the weak genes are responsible. If we express the activity of the viruses in a similar manner, i. e. in reaction terms, it should be formulated in the following way: The reaction system as well as each single reaction directed by the common virus proceed more rapidly than those directed by the yellow virus when the virus concentration is the same, therefore the plant is manifesting the symptom specific for the former virus; the products of the reactions directed by the yellow virus being formed with some delay after the formation of the common virus.

Finally, there is a third possibility in which the reactions of the common virus developing normally (or their products) disturb the normal trend of development of the yellow virus reactions. Thus there seem to exist at least three possibilities that may explain the disappearance of the symptoms of the yellow virus in tobacco when the normal virus is present and can be briefly formulated in the following way:

1. Common virus acts like a "vaccine" in tobacco plants and the latter forms bodies which react against the yellow virus in the way heterogenous antibodies act.

2. Both viruses develop parallel in tobacco plants but the symptoms (products) of the common virus develop earlier than those of the yellow virus so that those of the latter one get covered.

3. The symptoms of the common virus have a normal realization, but the reactions directed by the common virus or their products change the normal trend of the reactions of the yellow virus or inhibit them.

They may be expressed graphically in the following way:

1. Common virus → plant → induction of plant substances → neutralization of the yellow virus or its products
2. a) Reactions of the common virus → a) realization of symptoms  
b) Reaction of the yellow virus → b) appearance of "a" symptoms  
exclude or cover the appearance of "b" symptoms
3. a) Reaction system of the common virus → symptoms  
b) Reaction system of the yellow virus get inhibited by  
the common virus or the products participate in the  
realization of the symptoms of this common virus → no symptoms.

The "vaccine" activity of the common virus in respect to the yellow one cannot yet be assumed in the way offered by the authors, because the other two possibilities may explain as well the phenomenon. We do not claim that the second or the third is true, but we only want to show that the first is not yet proved. This does not mean at all that plants cannot be immunized.



Fig. 12.

Non-parasitic tumors formed on the hybrid plant *Nicotiana glauca*  $\times$  *Nicotiana Langsdorffii*. Gene or genes are responsible for their appearance, but there are cases in animals when virus can induce tumor formations too (Rous' sarcom.)

Comparing further the nature of the viruses with that of the genes we must point to some differences between them.

It has already been mentioned that according to Stanley (1935) virus (tobacco) can be isolated *in vitro* as protein crystals. It can also be cultivated *in vitro* when living tissue cells are present in the culture medium. (Recently, Francis and Magill, [1935] cultivated *in vitro* human influenza virus when the technique devised by Li and Rivers [1930] was employed in which pieces of minced 10–14 day chick embryo suspended in Tyrode's solution in a Rivers' flask were used.) The nature of the genes is not yet exactly known. They act in the "living matter" and their activity is irreversibly lost when the organism dies. Before Stanley's discoveries it was possible to assume

that viruses if living in Alexander and Bridges' sense have more than one gene, but Stanley's discoveries show that tobacco virus should have a relatively simple chemical structure, since it appears as a crystallizing protein.

We shall recall here a few phenomena that may be caused by viruses as well as by genes. Such a phenomenon is the variegation that often occurs in plants. (Data summarised by Riskov 1933 and de Haan 1934.) We give in fig. 11 a genic variegation in *Nicotiana Langsdorffii*. Often geneticists have mistaken virus-variegations for genic ones and vice versa phytopathologists have sometimes mistaken genic variegations with such caused by viruses. Virus can cause variegations not only on the leaves of the plants but also on the flowers. Red flowering *Nicotiana triplex* often forms variegated flowers when infected with virus. On the other hand variegations in Nicotiana species hybrids (white stripes on the red or pink flowers) due to genic mutations often occur (Kostoff 1935). Tumors can be induced by viruses (Rous' sarcom) as well as by genes (Heritable, non-parasitic tumors, — see Kostoff 1933, 1935). The latter kind of tumors are given in fig. 12.

Finally, the antigenic nature of the genes and viruses should be recalled. Numerous investigators like Purdy (Purdy-Beale 1929, 1931, 1933, 1934), Matsumoto and his students (1930—1934), Gratia (1933), Birkeland (1934) etc., showed that virus has an antigenic nature when injected into animals. Chester (1935) also claimed that he showed this, but his studies were principally questioned by McKinney (1935). Abderhalden (1935) as well as Heronimus, Gershenson and Avreh (1935) showed that genes may also have an antigenic nature.

We noted above a series of characters of the virus and of the gene. Some of them coincide, others are similar and some others somewhat different. It is very unfortunate that we do not yet know such essential characters according to which we can definitely establish the degree of relationship between genes and viruses. Until that time we have no right to claim that genes are identical with viruses. It is better now to leave this question open, instead of drawing premature conclusions. We can only say now that in many respects the effect of the virus is similar to that of the gene.

Discussing the mutual relations between genic and virus reactions, we should point out an important role that the viruses seem to play in plant phylogeny. About the "phylogeny" of the virus itself we cannot say much now, because we do not yet have stated unquestionably the appearance of virus mutations. It seems very logical, however, to postulate this since we know numerous viruses that have different properties and cause various symptoms. This virus diversity can be most plausibly

explained by postulating virus mutations, the physico-chemical nature of which might be similar to that of the gene mutations.

But the role of the viruses in the formogenesis of the higher plants can be somewhat differently and more definitely estimated. Virus reactions interfere with many genic reactions (this depends very much on the virus concentration) in the higher plants and change the end products. Tobacco plants, for example, infected with certain virus disease (Kostoff 1933) have disturbed meiosis and occasionally disturbed mitosis. The normal procedure of the meiotic processes (and when the virus is highly concentrated, the mitotic too) is disturbed in severely attacked plants. The meiotic disturbances lead to formation of abnormal germ cells, the latter having abnormal chromosome numbers, i.e. one or more chromosomes less than the normal chromosome number or in excess, or even doubling due to non-occurrence of one of the meiotic divisions, most frequently the first one. Virus changes the degree of chromosome conjugation by reducing the chiasma frequency so that univalent chromosomes often occur which also appear as a cause for abnormal meiosis and non-disjunctions.

The formation of abnormal germ cells is the first and most essential step to the production of diverse forms, some of which may have a phylogenetic value. In other words, virus disease participates actively in the formogenesis of the higher plant. It is very plausible that some of the chromosome alterations induced by virus diseases may be accompanied by an increase of the mutation rate of the genes—a phenomenon that has important phylogenetic sequences.

---

### Literature cited.

- Abderhalden, E. 1935. The significance of proteative proteases for the differentiation of the protein substances. Summaries of Commun. XV Internat. Physiol. Congress. Leningrad-Moscow (In Russian). p. 1.
- Alexander, J. and Bridges, C. 1928. Some physico-chemical aspects of life mutation and evolution. Colloid Chemistry, pp. 9—58.
- Anderson, P. J., Swanbock, T. R. and Street, O. E. 1931. Conn. Agric. Exp. Stat. Tobacco Subst. At Windsor. Bulletin No. 335.
- Birkeland, J. M. 1934. Serological studies of plant viruses. Bot. Gaz. 95:419—436.
- Chester, K. S. 1935. The antigenicity of the plant viruses. Phytopathology, 25:702—714.
- Demerec, M. 1934. The gene and its role in ontogeny. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 2:110—115.
- Francis, T. and Magill, T. 1935. Cultivation of human influenza virus in an artificial medium. Science. 82:353—354.
- Garner, W. W. 1929. Tobacco Culture. U. S. Depart. Agric., Farm. Bull. 571:21.
- Goldschmidt, R. 1927. Physiologische Theorie der Vererbung. Berlin. J. Springer.
- Gratia, A. 1933. Pluralité antigénique et identification sérologique des virus des plantes. Compt. Rend. Soc. Biol. 114:923—924. (See also ibid. 114:925—926. 114:1382—1383, 115:1239—1241).
- Holms, F. O. 1934. Inheritance of ability to localize tobacco-mosaic virus. Phytopathology, 24:984—1002.
- Hopkins, J. C. F. 1930. Field control of frenching in tobacco. Bull. No. 734 of the Minister of Agric. and Lands (Rhodesia). pp. 1—8.
- Heronimus, E. S., Gershenson, S. M. and Avreh, V. V. 1935. Serological analysis of *Drosophila* genotypes. Summaries of Commun. XV Intern. Congress of Physiol. Leningrad-Moscow. (In Russian) p. 105.
- Jensen, H. 1921. Ziekten von de tabac in de Vorstenlanden. Mededeeling XC.
- Johnson, James. 1924. Tobacco diseases and their control. U. S. Dep. Agric. Bull. 1356.
- Karraker, P. E. and Valleau, W. D. 1930. Frenching of tobacco and liming. Amer. Journ. Agric. 22:283.
- Koltzhoff, N. K. 1928. Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie. Biol. Zentralbl. 48:345—369.
- Kostoff, Dontcho. 1933. Virus diseases causing sterility. Phytopatholog. Zeitschrift. 5:593—602.
- Kostoff, Dontcho. 1933. A contribution to the sterility and irregularities in the meiotic processes caused by virus diseases. Genetica. 15:103—114.
- Kostoff, Dontcho. 1933. Tumor problem in the light of researches on plant tumors and its relation to the problem of mutation. (A critical review from biophysical and cytogenetic point of view). Protoplasma. 20:440—456.
- Kostoff, Dontcho. 1935. On the increase of mutation frequency following interspecific hybridization in *Nicotiana*. Current Science. 3:302—304.
- Kostoff, Dontcho. 1935. Heritable tumors in plants experimentally produced. Genetica. 17:367—376.
- Kostoff, Dontcho and Radjably, J. 1935. Cytogenetic studies of certain composite hybrids in *Nicotiana*. Bull. Inst. Genet. Acad. Sci. USSR. 10:29—63.

- Matsumoto, T. 1930. Antigenic properties of tobacco mosaic juice. *Jour. Soc. Trop. Agric.* 1 : 291—300.
- Matsumoto, T. and Komasawa, K. 1930—1934. Immunological studies of mosaic diseases. I, II, III, IV. *Ibid.*, 2 : 223—234, 3 : 24—33, 4 : 161—168, 5 : 37—43.
- McKinney, H. H. 1935. The inhibiting influence of a virus on one of its mutants. *Science*. 82 : 463—464.
- McKinney, H. H. 1935. The antigenic properties of plant viruses. *Science*. 82 : 276—277.
- Nolla, J. A. B. and Roque, A. 1933. A variety of tobacco resistant to ordinary tobacco mosaic. *Jour. Depart. Agric. Porto Rico*. 17 : 301—303.
- Purdy, H. A. 1929. Immunologic reactions with tobacco mosaic virus. *Jour. Expr. Med.* 49 : 919—935.
- (Purdy)-Beale, H. 1931. Specificity of the precipitin reaction in tobacco mosaic disease. *Contr. Boyce Thompson Inst.* 3 : 529—539.
- (Purdy)-Beale, H. 1934. The serum reactions as an aid in the study of filtrable virus. *Ibid.* 6 : 407—435.
- Raciborski. 1898, 1899. *Meded. Vorsenl. Tabak.* No. 5, 1913, after Schweizer, J. 1933.
- Rishkov, V. L. 1933. Mutation and diseases of the chlorophyll grains. *Selhosghis*. Moscow In Russian.
- Rishkov, V. L. 1935. Virus diseases of the plants. *Ibid.* In Russian.
- Rivers, T. 1934. Filtrable viruses. *Selhosghits*. Moscow. In Russian.
- Schweizer, J. 1933. *Tjemara-ziekte bij Tabak.* Besoekisch Proefstat. *Meded.* No. 50 : 1—28.
- Sprecher. 1914, *Meded. Besoek. Proefstation*, No. 12, after Schweizer 1933.
- Stanley, W. M. 1935 Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus. *Science*, 81 : 644—645.
- Timoféeff-Ressovsky, N. W., Zimmer, K. G. und Delbrück, M. 1935. Über die Natur der Genmutation und Genstruktur. *Nachr. Gesellsch. Wissensch. Göttingen*, Neue Folge Bd. Nr. 13, pp. 188—245.
- Valleau, W. D. and E. M. Johnson. 1927. Tobacco frenching — a nitrogen deficiency disease. *Ky. Exp. Sta. Bull.* 381 : 179—253.
- Wolf, F. A. and Moss, E. G. 1919. Disease of fl. tobacco. *Nord Cal. Dep. Agr. Bull.* 263 : (Vol. 40, No. 12) : 22—24—(1919).



From the State Institute for Rubber and Gutta-Percha, Moscow.

---

## The inoculation of phytopathogenic microbes into rubber-bearing plants by nematodes.

By

V. O. Kalinenko.

With 7 Figures.

Two new plant species, containing rubber of excellent technological qualities in their roots, have been recently discovered in the Tian-Shan within the borders of the Soviet Union. The average percentage content of rubber equalizes 10, but in individual plants it may be as high as 40 p. c. of the root's dry weight.

The first of these rubber plants has been named *Taraxacum kok-saghs* *Rodin*, the second — *Scorzonera tau* — *saghs* *Lip. et Bos.*

The Kirghiz highlanders chew the roots of *tau-saghs*, obtaining in this manner something similar to the American chewing-gum.

Seed collected in the Tian-Shan plantations of *tau-saghs* and *kok-saghs* have been sown both in the European and Asiatic parts of USSR for purposes of industrial exploitation.

These remarkable plants in plantation cultures suffer from root lesions, caused mainly by nematodes.

Sveshnikova and Skarbilovich have identified among the nematodes found in the roots of *tau-saghs* the following species:

1. *Tylenchus (Tylenchorhynchus) multicincta Cob.*
2. *Tylenchus (Chitinotylenchus) pratensis de Man.*
3. *Aphelenchus avenae Bast.*

These nematodes actively penetrate into the roots, where the females lay their eggs. They attack the *tau-saghs* already a few days after the first rootlet grows out of the seed.

Often a brownish spot appears on the surface of the root around the cephalic end of the nematode penetrating into it. This is the first response of the plant to the intrusion of the parasite (Fig. 1).

After the penetration of the nematode into the root is completed profound lesions appear in the root. Serial microtomic longitudinal sections of the roots of *tau-saghs* and *kok-saghs* of varying age were prepared for the study of these lesions. The tissue response to the intrusion of

nematodes was well visible in these sections stained by methylene blue, gentian violet, neutral red and Sudan III.

### Pathoanatomical alterations, provoked by nematodes in the roots of *kok-saghys*.

The nematodes, having penetrated into the root, cause first of all mechanical destructions in it. They bore passages under the epidermis and in the parenchyme. Root vessels are often torn in the process, thus

interfering with the plant's nutrition. The nematodes bore through and tear several layers of cells. Hollow spaces are thus formed around them exceeding in size the diameter of their own body.

In those places, through which the nematodes have passed, pathological alterations of the tissues begin to appear. They involve the envelope, plasm and nuclei of the cells lying in the vicinity of the ruptured places.

The plasm loses its homogeneousness and becomes granular, in loose clods. The cell walls become thicker and swell; in this condition they begin to stain differently from their normal condition. Gentian violet gives them a dark-brown, almost black colour, and methylene blue — a dark-green one.

The loose plasm lies close to the walls of the cells. The nuclei lose their round shape, swell and break up into small granules. These granules form amorphous unstaining accumulations in the plasm. (Fig. 2, 3 and 4).

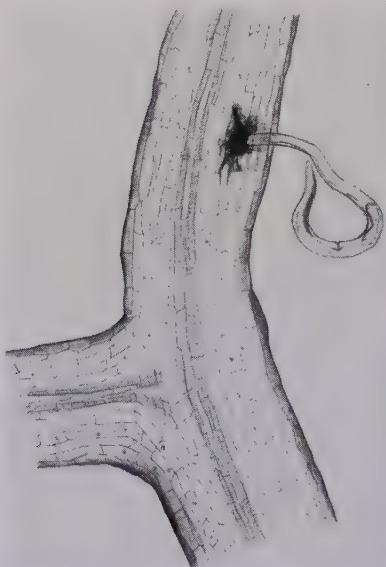
Fig. 1.  
Drawing.  
The brown coloration of the tissues  
of a *kok-saghys* root around the cephalic end of a nematode penetrating  
into it. ( $\times 50$ )

Drawing-chamber-Abbé-Zeiss.

Water solutions of gentian violet and methylene blue produce a gamut of shades in the altered tissues. Evidently the pathologic degeneration of the cells is accompanied by pH changes, to which the stains respond as colour indicators.

### The rôle of microbes, inoculated by the nematodes.

The appearance of microbes within the root must be regarded as the most characteristic feature of its invasion by nematodes. The microbes form zoogloea and are found dispersed not only in the cavities bored by the nematodes but in the neighbouring cells as well. The microbes



brought in by the nematodes start immediately an independent existence in the plant's tissues.

They settle at considerable distances from the site, were they had left the nematodes.

The enzymes, secreted by the microbes affect the nuclei of the cells, and the nuclei after loosening and breaking up into granules totally lose their structure and disappear.

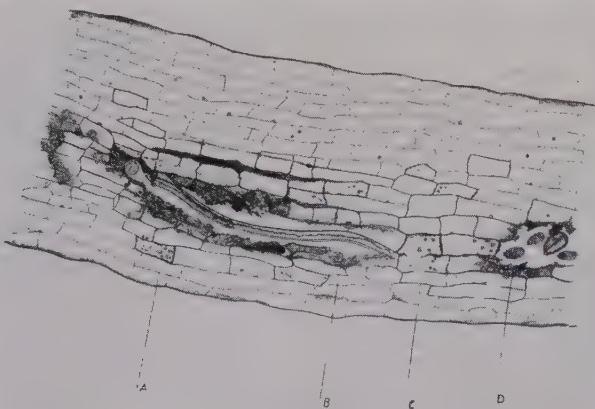


Fig. 2.  
Drawing.

Pathoanatomical alterations in the root of *kok-saghys*, caused by an invading nematode.

- A. Zoogloea of microbes within a cell.
- B. The nematode lying within the hollow space cleared by it in the root.
- C. Tears in cell walls.
- D. Eggs laid by the female nematode.

The nematodes are surrounded by rows of highly degenerated cells.  
( $\times 150$ .) Drawing chamber.

The plasm of the cells gathers in clods, the cell becomes vacuolated, its walls are macerated.

The vessels of the root are also destroyed. In short the usual processes of the decomposition of plant tissues caused by the action of bacterial enzymes come into play here.

Thus, the combined action of nematodes and microbes causes extensive lesions in the roots. The traumatic destructions fall to the part of nematodes, the enzymatic ones to that of microbes.

The destructive alterations occurring inside of the root cause the appearance of brown spots on its surface, easily discovered with the help of a  $30 \times$  magnifying glass. But only in microtomic sections the picture is revealed of all the dangerous and vast destructions, caused by the nematodes and by the microbes, introduced by them.

The lesions described are found both in young and adult plants. In seedlings the course of the process is so speedy that they perish 5 days after their inoculation with microbes by nematodes.

In adult rubber plants the nematodes inoculate the phytopathogenic microflora into lateral rootlets which they are able to attack because of the delicate structure of these parts of the plants. From the lateral rootlet the infection proceeds to the main root and attacks the vessel cylinder of the plants. The whole bush perishes soon after this.

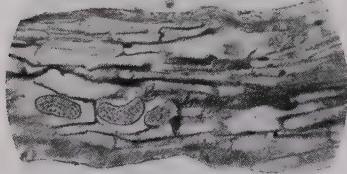


Fig. 3.  
Microphotograph.  
Cell lesions caused by nematodes  
in *kok-saghys*. ( $\times 375$ .)



Fig. 4.  
Microphotograph.  
Idem. ( $\times 375$ .)

The decay of the root of *kok-saghys* and *tau-saghys* is caused by various species of microbes.

The fact, that a disease has not one causative agent, indicates that there must be an inoculator, which introduces the variegated microflora, dwelling on its body into the plant. In this case, as we see, the part of such an inoculator is played by nematodes. For isolating the microbes which attack the rubber plants, we took the plants during the earliest stage of the disease. We avoided the use of later stages, because, naturally, various microbes may penetrate a decaying root.

After a careful disinfection of the surface, we excised the brown spots, hardly visible to the naked eye in the longitudinal sections of the roots, and isolated the microbes from them according to the usual phytopathological technique.

The following species have been isolated: 1. *Bact. carotovorum* *Ion.*, 2. *Bact. hyacinthi* *Wak.*, 3. *Bact. phaseoli* *E. Smith*, 4. *Bact. necrosis* *Kalin.*, 5. *Bact. fluorescens* *Fl.*, 6. *Bacil. vulgatus* *Fl.*, 7. *Bacil. mesentericus* (*Fl.*) *Lehm. et Neum.* and several other species related to the *Proteus* group.

Though not one, but several microbial species are isolated from the attacked roots, they all have properties in common, permitting them to

exercise a phytopathogenic effect in the roots. We mean the presence of proteolase and amylolase in all of them. The chief symptoms of the disease are formed by the destruction of proteins and carbohydrates, especially of inulin, which constitutes up to 50 p. c. of the total root mass.

The prevailing majority of the microbes isolated from the roots possesses one or both of these ferments, and besides these a number of other enzymes attacking poly- and monosaccharides.



Fig. 5.  
Photograph.

A chain of colonies, formed on the agar surface along the path of the nematode. ( $\times 10$ .)

Often the nematodes inoculate one plant with several species of microbes simultaneously. Of these, some decompose intensively the root's carbohydrates, others simultaneously destroy its proteins. Their cooperated activities lead to a speedier ruin of the plant.

#### Analysis of microbes, dwelling on the nematodes and within them.

The microflora of the cuticular cover of the nematodes we investigated by placing individual nematodes into meat-peptone agar Petri dishes.

Glass rods drawn out into a thread at one end were used for fishing out the nematodes. After some experience the necessary dexterity is acquired for catching up individual nematodes from the drop of water in which the tissue of the diseased root has been preliminarily spilt into filaments. The catching is rendered much easier if one irritates the nematode with the end of the thread in the drop, without permitting it to lie quietly on the object slide. The swimming nematode is caught up by means of the thread, which is passed under its body and transferred to a drop of sterilized tap water placed on a flamed slide. After it has been washed for 3 minutes the nematode again is caught up with the glass thread and is transferred to the surface of the agar gel in the

centre of a Petri dish. The centre is preliminarily marked, a point is made with Indian ink on the outside of the Petri dish, and this point is visible through the agar at the moment of the placing of the nematode. This mark is of some help later on in finding the nematode which is laid with the glass thread near it.

Having assured oneself that the nematode lies on the agar, the dish is placed into the incubator and kept there for 24 hours at 25° C. After 24 hours a very expressive picture is obtained (see Figs 5, 6 and 7).



Fig. 6.  
Photograph.

Microbes grown along the nematode's path in deeper layers of the agar. ( $\times 10$ .)

Colonies of microbes are formed along the path of the nematode. Sometimes the nematode draws a continuous line, consisting of microbe colonies (Figs 5, 6, 7).

Fresh agar, but recently solidified in the Petri dish, should be used for this work, so that some condensation-water would be present on its surface. On dry agar the nematode will not travel over a wide enough range.

The abundant growth of colonies on the agar, in those places over which the nematode has crept indicates that its body is contaminated by microbes on the outside.

The technique of placing individual nematodes on Petri dishes gives, moreover, a clear idea of the rôle of the movement itself of nematodes. Travelling on the agar surface, or within the plant they carry with them pathogenic agents and help their propagation.

We consider, however, the study of their intestinal flora more important for understanding the rôle played by nematodes, as inoculators. Feeding inside of the root and ejecting their microbe-containing excrements there, the nematodes infect the plant.

A complete disinfection of the external cuticle was necessary for the isolation of intestinal microbes. For this purpose the worm caught up with the glass-thread was transferred into a drop of sublimate, diluted 1:1000. In this solution the nematode was kept for 1—3,5 minutes.

Then it was caught up by means of a sterile glass-thread (taken out a special test-tube with sublimate solution), and transferred individually into a test-tube with meat-peptone broth.

For the control of the thread itself, after the nematode had fallen off it was dipped for 1 second into another test-tube with broth. The result was that out of 127 disinfected nematodes only 26 caused the growth of microbes in the broth; the growth appeared only 3 days later. The cause of this delay is that the microbes cannot be liberated immediately from the intestine of the nematode, killed by the sublimate.



Fig. 7.  
Photograph.

A band consisting of colonies of microbes, inoculated into agar by a nematode. ( $\times 10$ )

It might be supposed, that the traces of sublimate introduced into the broth with the nematode during the seeding may hinder the growth of the microbes. However, by inoculating the test-tubes, which produced no growth in the experiment, with cultures, it could be shown, that the traces of sublimate are no obstacle for growth. Why then out of 127 nematodes only 26 proved able to contaminate the broth?

The explanation is that during the disinfection the nematodes swallow sublimate solution and thus partially kill off the microbes in their intestine. This is easily verified by examining nematodes in a drop of sublimate solution under the microscope. They contract intensely and granules of neutral red, specially added to the sublimate for this purpose, penetrate into their digestive tract. The possibility cannot be excluded, moreover that besides swallowing, the sublimate may penetrate into the nematodes through the cuticle and partially kill the microflora within.

We have observed that being heated up to  $45^{\circ}\text{C}$  our nematodes lost their mobility. We decided to utilize this termic shock for eliminating the muscular contractions in the nematodes placed into sublimate solution.

We intended to prevent them in this manner from swallowing the antiseptic. However, the nematodes paralysed by heat became animated immediately after they were placed into the sublimate solution and began to contract vigorously.

We might, of course, increase the time of heating or raise the temperature, but this evidently might kill together with the nematodes the microbes in their intestine.

However even the 26 positive test-tubes allow to assume that the nematodes carry microbes not only on the surface of their body but also inside it.

By plating the broth cultures in meat-peptone agar Petri dishes, we isolated the microbes, dwelling in the intestine of nematodes, in pure cultures.

The cultures isolated from the surface and from the intestine of nematodes were identified by the usual bacteriological technique.

They were compared with the strains isolated from the diseased roots, i. e. with *Bact. carotovorum*, *Bact. hyacinthi*, *Bact. phaseoli*, *Bact. necrosis*, *Bact. fluorescens*, *Bac. vulgatus* and *Bac. mesentericus*.

We obtained agglutinating sera against these strains by means of the usual technique, applied for this purpose by medical bacteriologists.

The agglutination test was made with all the 26 strains isolated from the intestine. It permitted to divide them into 5 groups, identical resp. with *Bact. carotovorum*, *Bact. phaseoli*, *Bact. necrosis*, *Bact. fluorescens* and a group of unidentified species, related to the *Proteus* group.

Besides the serological tests, we subcultured these groups on the main media, i. e. unsoluble starch, glucose agar, meat-peptone gelatine, potatoes, broth and milk. The results confirmed those of the serological tests. We were able, thus, to isolate from the intestine of nematodes 5 groups of microbes, identical with those characteristic of the processes of maceration in *tau-saghys*.

The distribution of the identified species was as follows: 1) *Bact. carotovorum* — isolated from the intestine of nematodes 4 times; 2) *Bact. phaseoli* — 3 times; 3) *Bact. fluorescens* — 5 times; 4) *Bact. necrosis* — 7 times; the remaining 7 strains belonged to the not nearer identified group related to the *Proteus* one.

Obviously, by extending our study of the intestinal microflora of nematodes, we might increase the number of the putrefactive agents found.

We also arrange experiments with the infection of *tau-saghys* by the strains, isolated from the intestine of nematodes, with the purpose of proving their phytopathogenicity.

#### **Experimental inoculation of *tau-saghys* with microbes, isolated from the intestine of nematodes.**

We inoculated *tau-saghys* seedlings with the identified species (*Bact. carotovorum*, *Bact. phaseoli*, *Bact. phaseoli*, *Bact. necrosis*, *Bact. fluorescens*). A mixture of these species was introduced by pricking the roots with glass-threads, which substituted the nematodes in this experiment. We

used a mixture of 4 strains considering, that under natural conditions the nematodes also inoculate *tau-saghys* with several species of microbes simultaneously.

*Tau-saghys* was grown in pots on soil preliminarily freed from nematodes by heating for 20 minutes at 100° C. Roots of 10-day old plants were carefully laid bare several millimeters below the neck and disinfected by applying small cotton tampons, soaked in 96° spirit of wine. A glass-thread, dipped into a mixture of the pure culture of our strains, was immediately stuck into the root at a sharp angle, so as to puncture only the epidermis and reach the parenchyme. The glass splinter was left in the root to the end of the experiment.

*Tau-saghys* plants kept in the hot-house began to show signs of disease 5 days after the inoculation of these glass-threads, and 12 days after the beginning of the experiment 57 p. c. of the experimental plants had perished. Every diseased seedling was fixed, embedded in paraffin and cut in sections on the microtome. We have excluded all the cases in which vessels had been injured by the glass-thread.

The control seedlings were pricked with glass-threads carrying no microbes. These control seedlings wilted only if the central vascular fascicle was damaged by the thread.

The diseased plants showed all the symptoms, characteristic of the lesions caused by nematodes. The leaves of *tau-saghys* wilted, its roots turned brown, watery and began to decay. The paraffin sections revealed the same picture, as the one observed after the natural inoculation of microbes by nematodes. The cells were full of microbes, their plasm was coagulated, their nuclei and walls showed destructive alterations, the tissues lacked turgidity and were macerated. Thus, we had succeeded in reproducing the disease experimentally, having substituted the nematodes by glass splinters, contaminated by microbes isolated from the intestine of nematodes.

### Summary.

The chief purpose of the above work was to demonstrate the phytopathogenic rôle of the nematodes invading the roots of rubber plants.

The injury producing effect of the nematodes is composed of the following two moments:

1. the tearing of the tissues in the course of the nematode's movements within the plant;

2. the simultaneous inoculation of microbes into the wound by the nematode.

It appeared that the nematodes carry microbes both on and inside their body, which are able to provoke disease in the plant.

The author studied the contamination of the cuticular surface of the nematodes by transferring individual nematodes from the diseased roots on sterile agar plates. The living nematode moving on the surface of the agar in the Petri dish inoculated it with microbes, which formed colonies along its path.

For studying the intestinal contamination of the same nematodes the author subjected their cuticle to disinfection with sublimate and then transferred the dead nematode into broth. Three days later the microbes, inhabiting the digestive cavity of the nematode, came out into the medium and grew in it.

Having obtained 26 cultures from the intestine, the author identified them with the microbes isolated by him from the tissues of diseased tau-saghys plants.

It was found, that these 26 cultures fall into 5 groups: 1. *Bact. carotovorum* Ion., 2. *Bact. necrosis* Kalin., 3. *Bact. phaseoli* E. Smith, 4. *Bact. fluorescens* Fl., and 5. a group of non-identified species, related to the *Proteus* group.

The microbes isolated from the naturally diseased roots by the author belonged to the same 5 groups and to two more, i. e. *Bact. vulgatus* and *Bact. mesentericus*.

Thus the nematodes, invading the roots of rubber plants are carriers of microbes, phytopathogenic for *tau-saghys* and *kok-saghys*.

Besides the usual methods of identification the author used the method of agglutination, which was helpful in dividing the numerous strains as yet unidentified into groups of related strains.

*Tau-saghys* plants, grown in the hot-house, were inoculated with the strains, isolated from the intestine of nematodes, by pricking them with glass-threads wetted with a mixture of pure cultures of these strains.

The author succeeded in provoking a typical disease in these plants appearing 5 days after such an experimental inoculation.

Its symptoms, both external and pathoanatomical, were perfectly identical with those caused by nematodes, which inoculate the same strains under natural conditions.

---

# Über die Zusammensetzung der Mineralstoffe in krebsbefallenen Kartoffelknollen.

Von

Antonín Němec.

Seit einigen Jahren befasse ich mich mit den Fragen der Biochemie des Kartoffelkrebses. Auf diesem Gebiete herrscht heutzutage noch ein völliges Dunkel. Um in das Problem der biochemischen Vorgänge bei dem Krebsbefall der Kartoffelknolle etwas Licht zu bringen, mindestens was den Mineralstoffwechsel anbelangt, habe ich den Aschengehalt und die Zusammensetzung einiger krebsbefallener Kartoffeln untersucht, und zwar nicht nur des befallenen Knollengewebes, sondern auch der durch Krebs ausgebildeten Wucherungen. Das Versuchsmaterial wurde mir durch das Entgegenkommen des Vorstandes des Phytopathologischen Institutes der staatlich landwirtschaftlichen Versuchsanstalten in Prag Dozent Dr. F. Straňák zur Verfügung gestellt. Mangels frischen Materials wurden die Analysen von vier Kartoffelproben an Formalinpräparaten vorgenommen, nur die zuletzt angeführte Analyse (Morchenstern) bezieht sich auf frische krebsbefallene Knollen und deren Wucherungen.

Die Zusammenstellung der Ergebnisse von Aschenanalysen krebsbefallener Kartoffelknollen befindet sich in den Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1.

Der Gehalt an Mineralstoffen in der Trockensubstanz krebsbefallener Kartoffelknollen.

Fundort	Asche in der Trocken- substanz %	Prozente in der Trockensubstanz							Verhältnis- zahlen	
		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	MnO	SO <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	MgO : CaO	K <sub>2</sub> O : MgO
Arnsdorf . . . . .	2,211	0,344	1,323	0,105	0,087	0,015	0,156	0,040	0,83	15,21
Innergefild . . . . :	2,104	0,325	1,371	0,066	0,082	0,010	0,184	0,032	1,24	16,72
Marienberg bei Tannwald .	2,398	0,390	1,430	0,068	0,093	0,018	0,261	0,038	1,37	15,48
Windisch-Kamnitz, Bezirk Tetschen . . . . .	2,329	0,280	1,405	0,200	0,063	0,016	0,289	0,039	0,31	22,30
Morchenstern . . . . :	2,193	0,409	1,087	0,240	0,051	0,018	0,103	0,038	0,21	21,31
Mittlere Zusammensetzung normaler Knollen nach Stutzer. . . . .	3,800	0,560	2,400	0,120	0,240	—	0,240	0,080	2,00	10,00
Mittlere Zusammensetzung krebsbefallener Knollen .	2,247	0,361	1,323	0,136	0,075	0,015	0,199	0,037	0,55	17,64

Tabelle 2.  
Die Zusammensetzung der Aschen krebsbefallener Kartoffelknollen.

Fundort	Prozente in der Trockensubstanz						
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	MnO	SO <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>
Arnsdorf . . . . .	15,578	59,831	4,771	3,934	0,669	7,054	1,831
Inneregefild . . . . .	15,356	64,850	3,103	3,879	0,482	8,705	1,537
Marienberg bei Tannwald . . . . .	16,251	59,635	2,831	3,882	0,754	10,545	1,605
Windisch-Kamnitz, Bezirk Tetschen .	12,039	60,332	8,596	2,709	0,699	12,430	1,657
Morchenstern . . . . .	18,650	49,567	10,944	2,326	0,820	4,697	1,733
Mittlere Zusammensetzung normaler Knollen . . . . .	14,734	63,158	3,158	6,316	—	6,316	2,105
Mittlere Zusammensetzung krebsbefallener Knollen . . . . .	15,575	58,834	6,049	3,346	0,684	8,686	1,673

Zum Vergleich sind in den Tabellen die mittleren Zusammensetzungen normaler Kartoffelknollen nach Stutzer (1) angeführt. Die Gegenüberstellung der Analysenergebnisse krebsbefallener und normaler Kartoffelknollen zeigt uns wesentliche Unterschiede nicht nur was den Aschengehalt, sondern auch was die Zusammensetzung der Aschenstoffe anbelangt. Die krebsbefallenen Knollen sind bedeutend ärmer an Aschensubstanzen. Diesen Differenzen darf man jedoch einstweilen keine besondere Bedeutung beimessen, da die Sortenfrage und die Herkunft der Kartoffeln (Boden- und Klimaverhältnisse des Standortes) hier eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen können.

Mehr beachtenswert erscheint der Vergleich der Zusammensetzungen von Aschen. Die mittleren Gehalte an Phosphorsäure und Kali scheinen bei den krebsbefallenen im Vergleich zu den normalen Knollen keine übermäßigen Abweichungen zu zeigen. Anders verhalten sich die Kalk- und Magnesiagehalte der Knollenaschen. Die prozentualen Anteile des

Tabelle 3.  
Der Gehalt an Mineralstoffen in der Trockensubstanz der Knollenwucherungen.

Fundort	Asche in der Trocken- substanz %	Prozente in der Trockensubstanz							Verhältniszahlen	
		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	MnO	SO <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	MgO : CaO	K <sub>2</sub> O : MgO
Arnsdorf . . . . .	3,247	0,589	1,758	0,328	0,103	0,010	0,370	0,042	0,31	17,07
Inneregefild . . . . .	2,085	0,329	1,249	0,069	0,082	0,009	0,252	0,030	1,19	15,23
Marienberg bei Tannwald .	2,478	0,308	1,486	0,216	0,030	0,016	0,340	0,040	0,14	49,53
Windisch - Kamnitz, Bezirk Tetschen . . . . .	2,765	0,489	1,379	0,302	0,068	0,017	0,326	0,045	0,23	20,29
Morchenstern . . . . .	2,190	0,493	1,049	0,142	0,049	0,019	0,163	0,056	0,35	21,41
Mittlere Zusammensetzung der Wucherungen . . .	2,553	0,441	1,382	0,211	0,046	0,014	0,290	0,043	0,24	24,71

Magnesiagehalte erscheinen in den krebsbefallenen Knollen stark herabgesetzt, während bei den Kalkgehalten eher eine Steigerung zum Vorschein kommt. Somit ergeben sich wesentliche Unterschiede der Verhältniszahlen  $MgO : CaO$ , wie ich bereits in einer vor zwei Jahren veröffentlichten Arbeit feststellen konnte (2.). Diese Verhältniszahlen sind bei den krebsbefallenen Knollen derart herabgesetzt, wie dies bei keinen der bisher untersuchten gesunden Knollen, auch bei den gegen Krebs anfälligen Sorten, beobachtet werden konnte.

In Prozenten der Aschenzusammensetzung normaler Knollen ausgedrückt ergeben sich bei den krebsbefallenen folgende Abweichungen:

Magnesia . . . . .	— 47,0 %	$MgO$
Kieselsäure . . . . .	— 20,5 %	$SiO_2$
Kali . . . . .	— 6,8 %	$K_2O$
Phosphorsäure . . . . .	+ 5,7 %	$P_2O_5$
Schwefelsäure . . . . .	+ 37,5 %	$SO_3$
Kalk . . . . .	+ 91,5 %	$CaO$

Die größten Abweichungen zeigen die Kalk- und Magnesiagehalte der Aschensubstanz, sodann Schwefelsäure und Kieselsäure. Der Kalihalt in der Asche erscheint nur mäßig niedriger, der Phosphorsäuregehalt mäßig höher im Vergleich zu der Zusammensetzung der Asche in normalen Kartoffelknollen.

Die Mineralstoffgehalte der durch Krebsbefall hervorgerufenen Wucherungen der Knollen, berechnet auf die Trockensubstanz, sind in der Tabelle 4 angeführt.

Tabelle 4.  
Die Zusammensetzung der Aschen von Knollenwucherungen.

Fundort	Prozente in der Aschensubstanz						
	$P_2O_5$	$K_2O$	$CaO$	$MgO$	$MnO$	$SO_3$	$SiO_2$
Arnsdorf . . . . .	18,142	54,141	10,092	3,169	0,302	11,389	1,287
Innergefild. . . . .	15,771	59,893	3,299	3,932	0,451	12,074	1,462
Marienberg bei Tannwald . . . . .	12,414	59,950	8,733	1,622	0,646	13,721	1,598
Windisch-Kamnitz, Bezirk Tetschen . . . . .	17,701	49,850	10,921	2,459	0,607	11,781	1,635
Morchenstern . . . . .	22,511	47,900	6,676	2,237	0,639	7,443	2,557
Mittlere Zusammensetzung der Wucherungen-Aschen . . . . .	17,308	54,347	7,944	2,684	0,529	11,282	1,708

Die Zusammensetzung der Mineralstoffe der untersuchten Krebswucherungen ist durch ein Überwiegen des Kalkgehaltes im Verhältnis zu dem Magnesiagehalte charakteristisch. Die Verhältniszahlen  $MgO : CaO$  bewegen sich zwischen 0,18 und 0,35, und nur in einem Falle wird die Zahl 1,19 erreicht. Der mittlere Wert der Verhältniszahl  $MgO : CaO$  der Wucherungen ist wesentlich geringer (0,24) als bei den Knollen (0,55). In der Aschensubstanz der Wucherungen bemerken wir im Vergleich zu der

Zusammensetzung der befallenen Knollen in den meisten untersuchten Fällen einen höheren Schwefelsäuregehalt, dagegen einen geringeren Mangan- und Kaligehalt.

Aus den bisherigen Analysenergebnissen der befallenen Knollengewebe und der Krebswucherungen kann geschlossen werden, daß die Krebserkrankung merkbare Änderungen des Kalk- und Magnesiastoffwechsels der Kartoffelknolle hervorruft, die durch ein intensiveres Abwandern des Kalkes und der Schwefelsäure in die Gewebe der Wucherungen gekennzeichnet ist.

Um die Veränderung der Kalk- und Magnesiagehalte bei der Ausbildung von Krebswucherungen genauer verfolgen zu können, wurden in stark krebsverseuchten Lokalitäten des Böhmerwaldes (Neugebau, Neubusk, Seeheid, Fürstenhut) sowie vom Versuchsfeld des Phytopathologischen Instituts in Schluckenau (Nordböhmien) Proben von stark befallenen und von ohne Wucherung ausgewachsenen gesunden Knollen entnommen und in denselben die Aschen- sowie die Kalk- und Magnesiagehalte festgestellt. Die Vergleichsproben wurden stets von einer und derselben Sorte und von demselben Feld aus einer Kartoffelreihe herausgesucht. Die Entnahme der Knollenproben von den krebsverseuchten Lokalitäten des Böhmerwaldes wurde durch die Unterstützung des Herrn Oberfachrates A. Mahner von der deutschen Sektion des Landeskulturrates in Prag ermöglicht<sup>1)</sup>. Die

Tabelle 5.

## Die Kalk- und Magnesiagehalte der gesunden und der krebsbefallenen Knollen.

Fundort und Sorte	Knollen	Prozent in der Trockensubstanz			Prozent in der Asche		Verhältniszahl MgO : CaO
		Asche	CaO	MgO	CaO	MgO	
Neugebau (F. Eidner), Landsorte	gesund befallen	3,530 3,364	0,068 0,082	0,182 0,119	1,932 2,384	5,150 3,574	2,68 1,45
Neubusk (W. Robl), Landsorte	gesund befallen	2,914 2,668	0,064 0,074	0,170 0,089	2,213 2,774	5,843 3,336	2,66 1,20
Seeheid (W. Hani), Landsorte	gesund befallen	3,809 3,591	0,072 0,085	0,187 0,132	1,891 2,360	4,915 3,676	2,60 1,55
Fürstenhut (A. Bayer), Alfa	gesund befallen	4,102 4,170	0,076 0,105	0,160 0,139	1,842 2,518	3,896 3,347	2,10 1,32
Schluckenau (Versuchsfeld), Sula-Nieren	gesund befallen	4,840 3,807	0,109 0,178	0,202 0,194	2,262 3,681	4,176 5,091	1,85 1,09
Schluckenau (Versuchsfeld), Wohltmann	gesund befallen	3,770 3,672	0,072 0,114	0,152 0,129	1,923 3,099	4,026 3,513	2,09 1,13

<sup>1)</sup> Für das große Entgegenkommen bei der Entnahme von Kartoffelproben spricht Verfasser Herrn Oberfachrat Mahner seinen verbindlichsten Dank aus.

Ergebnisse der Knollenanalysen sind in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Über den Nährstoffgehalt dieser krebsverseuchten Böden im Böhmerwald habe ich bereits in einer früher veröffentlichten Mitteilung berichtet (3.). Diese Untersuchungen haben ergeben, daß die Böden dieser Kartoffelfelder mäßig reich an löslichen Stickstoffsubstanzen und sehr reich an zitronensäurelöslichem Kali sind, während der Phosphorsäuregehalt schon geringer und die Kalk- und insbesondere die Magnesiaversorgung der Böden ziemlich unzureichend erscheint. Allgemein zeigen diese Böden saure Reaktion und sind karbonatfrei.

Dagegen ist der Boden des Versuchsfeldes in Schluckenau ziemlich stickstoff- und mäßig kaliarm, jedoch versorgt mit Phosphorsäure. Die anlässlich der Entnahme von Knollenproben analysierten Bodenproben haben folgende Nährstoffgehalte aufgewiesen:

#### Versuchsfeld Schluckenau.

Boden-tiefe cm	Nährstoffgehalt, löslich in				CaCO <sub>3</sub> %	Azidität		
	1%iger Kalium- sulphat- lösung N mg/kg	1 %iger Zitronen- säurelösung		10 %iger NH <sub>4</sub> Cl- Lösung mg/kg		Aktive pH.	Aus- tausch- pH	
		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/kg	K <sub>2</sub> O mg/kg					
0-15	20,3	328,0	173,0	133,6	86,9	0	5,85	
15-35	20,3	249,0	113,5	105,8	39,8	0	5,95	
35-50	16,5	122,7	112,5	104,4	52,5	0	6,02	

Die mittleren Nährstoffgehalte der verseuchten Kartoffelböden im Böhmerwald und in Schluckenau gestalten sich folgenderweise:

Bodenproben	N mg/kg	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/kg	K <sub>2</sub> O mg/kg	CaO mg/100 g	MgO mg/100 g	pH	
						Aktive	Aus- tausch
Böhmerwald .	57,1	156,7	615,4	197,5	107,1	5,90	4,46
Schluckenau .	18,4	317,8	181,0	154,8	97,5	6,15	4,47

Obzwar der Kalkgehalt im Vergleich zu dem Magnesiagehalte des Bodens der krebsverseuchten Lokalitäten des Böhmerwaldes höher ist als des Versuchsfeldes in Schluckenau, zeigt sich in den Verhältniszahlen MgO:CaO der Knollentrockensubstanz (Tabelle 5) gerade ein umgekehrtes Verhältnis:

#### Mittlere Verhältniszahlen MgO : CaO

	Boden	Gesunde Knollen	Befallene Knollen
Böhmerwald . . .	0,54	2,51	1,38
Schluckenau . . .	0,63	1,97	1,11

Die krebsbefallenen Knollen mit bereits ausgebildeten Wucherungen zeigten wesentlich höhere Verhältniszahlen MgO : CaO als die mindestens scheinbar gesund gebliebenen Knollen derselben Sorte ohne Wucherungen. Diese Erscheinung wurde bei den bisher durchgeführten Knollenanalysen nicht nur in den Fundorten des Böhmerwaldes, sondern auch am krebsverseuchten Versuchsfeld in Schluckenau beobachtet. Mit der Zusammensetzung des Bodens, bzw. mit dem Magnesia-Kalkfaktor der leichtlöslichen Bodenreserven steht diese Tatsache in keiner Beziehung. Somit kann man annehmen, daß die Veränderung des Magnesia-Kalkverhältnisses der Knollentrockensubstanz der Ausbildung der Wucherungen zuzuschreiben ist, oder daß umgekehrt nur jene Knollen dem intensiven Krebsbefall und der Ausbildung der Wucherungen anheimgefallen sind, in welchen der Magnesia-Kalkfaktor wesentlich herabgesetzt ist. Diese Tatsache würde auch mit der Feststellung des niedrigen Magnesia-Kalkverhältnisses in den krebsanfälligen Kartoffelsorten übereinstimmen (2.).

Die Differenzen der Zusammensetzungen von Mineralstoffgehalten in den krebsbefallenen Knollen im Vergleich zu den gesund gebliebenen zeigen sich in den meisten Fällen auch in einer Herabsetzung der Aschengehalte der befallenen Knollen. In diesen befallenen Knollen wird das Herabsetzen des Magnesia-Kalkfaktors nicht nur durch den geringeren Magnesiagehalt der Knollentrockensubstanz allein, sondern auch durch den merkbar höheren Kalkgehalt herbeigeführt, wie es die Gesamtdurchschnittszahlen der bisherigen Analysen deutlich zeigen:

Knollen	Prozente in der Trockensubstanz			Prozente in der Asche		Verhältnis- zahl MgO : CaO
	Asche	CaO	MgO	CaO	MgO	
Gesund . . . . .	3,828	0,077	0,176	2,010	4,668	2,33
Befallen . . . . .	3,545	0,106	0,184	2,803	3,756	1,29

Diese Zahlen verweisen darauf, daß bei unseren Analysen die krebsanfälligen, jedoch dem Krebsbefalle und der Ausbildung der Wucherungen widerstand leistenden Knollen um 23,9 % mehr MgO und um 37,7 % weniger CaO enthielten als die dem Krebsbefall und der Bildung von Wucherungen anheimgefallenen Knollen derselben Sorten.

Eine endgültige Bestätigung dieser Tatsachen auf Grund von Analysenergebnissen bei anderen Fundorten und Kartoffelsorten erscheint sehr erwünscht, um die bisherigen, auf einer unzureichenden Anzahl von Feststellungen beruhenden Befunde und Schlußfolgerungen auf eine mehr gesicherte Basis stellen zu können.

Nachdem in den krebsanfälligen Sorten und in den krebsbefallenen Kartoffelknollen merkbar geringere Magnesiumgehalte in der Trockensubstanz festgestellt werden konnten, war es von Interesse, die Einwirkung der Magnesiadüngung auf die Aschenzusammensetzung der Knollen und eventuell auf die Intensität des Krebsbefalles zu prüfen. Auf dem Versuchsfelde in Schluckenau wurde bei einigen Kartoffelsorten durch das Phytopathologische Institut die Wirkung einer Magnesiadüngung mit verwittertem pulverigem Dolomitkalk auf die Krebsanfälligkeit untersucht. Das verwendete Düngemittel (Handelsbezeichnung „Magnesia Tatra“) hat bei der Analyse im Biochemischen Institut folgende Zusammensetzung aufgewiesen:

Kohlensaurer Kalk . . . . .	55,83 %
Kohlensaure Magnesia . . . . .	43,74 %
Kieselsäure . . . . .	0,21 %
Sesquioxide (Eisen, Aluminium) . . . . .	0,06 %.

Bei diesen Düngungsversuchen wurde der Boden mit einer übermäßig hohen Gabe des Kalkmagnesiadüngemittels, entsprechend 200 dz je 1 ha, versehen. Als Versuchspflanzen dienten die krebsanfälligen Kartoffelsorten Wohltmann, Landsorte Višňová und Erstlingen. Trotz der verwendeten sehr hohen Gaben des Kalkmagnesiadüngemittels wurden die sämtlichen Sorten durch Krebs befallen. Im Herbst (3. Oktober 1934) wurden von den einzelnen ungedüngten und gedüngten Kartoffelreihen Boden- und Knollenproben entnommen und chemischen Untersuchungen unterworfen.

Die Bodenanalysen haben folgende Zusammensetzung ergeben:

	Ungedüngt	Gedüngt mit 200 dz Kalkmagnesia je Hektar
Stickstoff, löslich in 1 % Kaliumpersulfat . . . . .	20,3	29,6 mg N
Phosphorsäure, löslich in 1 % Zitronensäure . . . . .	328,0	280,1 mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Kali, löslich in 1 % Zitronensäure . . . . .	173,0	363,5 mg K <sub>2</sub> O
Kalk, löslich in 10 % Chlorammonium . . . . .	1335,6	4443,6 mg CaO
Magnesia, löslich in 10 % Chlorammonium . . . . .	869,0	2368,1 mg MgO
Austauschazidität . . . . .	4,25	5,38 pH
Aktive Azidität . . . . .	5,85	6,30 pH

Die Ergebnisse der Bodenuntersuchungen verweisen darauf, als ob sich der Gehalt der leichtlöslichen Phosphorsäure des Bodens durch die starke Kalkmagnesiadüngung mäßig verringert hätte, während bezüglich des Kaligehaltes man eher auf ein sehr bedeutendes Freiwerden der leichtlöslichen Formen schließen könnte. Die stark saure Reaktion des Bodens wurde wesentlich herabgesetzt, die Gehalte des assimilierbaren Kalkes und der Magnesia sind erheblich gestiegen. Auf einen Hektar berechnet,

würde das Ansteigen des Kalkgehaltes im Boden (bei Annahme eines Gewichtes von 3000000 kg Boden je 1 ha) einer Düngergabe von 9324 kg CaO (167 dz Kalkmagnesia) entsprechen.

Durch die Düngung hat sich jedoch die Verhältniszahl der leichtlöslichen MgO : CaO zu ungünstigen der Magnesia verschoben (bei ungedüngt 0,65, bei gedüngt 0,53). Trotzdem kann man aus den nachstehend angeführten Analysen der Knollen auf eine Steigerung der Magnesiaresorption infolge der Düngung schließen (Tabelle 6).

Tabelle 6.  
Die Kalk- und Magnesiagehalte der krebsanfälligen Knollen  
nach Düngung mit pulverigem Dolomitkalk.  
Versuchsfeld Schluckenau in Böhmen.

Sorte	Düngung	Prozent in der Trockensubstanz			Prozent in der Asche		Verhältnisz. MgO : CaO	Azidität des Saftes pH
		Asche	CaO	MgO	CaO	MgO		
Landsorte Višnová, befallene Knollen	ungedüngt . .	3,686	0,099	0,178	2,707	4,853	1,80	6,19
	gedüngt . . .	4,180	0,096	0,185	2,394	4,501	1,93	6,21
Wohltmann, gesunde Knollen	ungedüngt . .	3,770	0,072	0,152	1,923	4,026	2,09	6,12
	gedüngt . . .	4,528	0,088	0,184	1,934	4,072	2,10	6,10
Wohltmann, befallene Knollen	ungedüngt . .	3,672	0,114	0,129	3,099	3,513	1,13	6,08
	gedüngt . . .	3,952	0,127	0,172	3,226	4,357	1,35	6,12
Erstlingen, befallene Knollen	ungedüngt . .	3,704	0,144	0,155	3,879	4,185	1,08	6,15
	gedüngt . . .	4,260	0,140	0,201	3,282	4,725	1,44	6,21

Die mit Kalkmagnesia gedüngten Knollen enthalten in allen untersuchten Fällen einen höheren Magnesiagehalt in der Trockensubstanz, in den meisten Fällen auch einen höheren Kalkgehalt. Die Menge der Aschenstoffe wird durch die Düngung merkbar erhöht.

Anders gestalten sich die Verhältniszahlen MgO : CaO bei den Knollenanalysen; bei höheren Verhältniszahlen werden diese durch die Düngung kaum verändert, und auch die Azidität des Knollensaftes bleibt dieselbe. Erst bei den niedrigen Verhältniszahlen zeigt sich ein wesentliches Heransteigen des Magnesia-Kalkfaktors, und die Azidität des Saftes wird nur sehr mäßig herabgesetzt.

Sorte der Knollen	Differenzen der	
	Verhältniszahl MgO : CaO	Azidität des Saftes pH
Wohltmann gesunde . . . . .	+ 0,01	- 0,02
Landsorte Višnová . . . . .	+ 0,13	+ 0,02
Wohltmann befallene . . . . .	+ 0,22	+ 0,04
Erstlingen . . . . .	+ 0,36	+ 0,06

Weiß und Harvey (4) haben festgestellt, daß durch den Krebserreger eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration in den krebsbefallenen Geweben hervorgerufen wird; die mittlere Azidität der gesunden Knollen war bei ihren Untersuchungen  $\text{pH} = 6,49$ , der krebsbefallenen  $\text{pH} = 6,00$ . In keinem Falle hat sich die Azidität des gesunden Gewebes dem Säuregrade des erkrankten genähert. Es war bemerkenswert, wie nahe bei den Untersuchungen von Weiß-Harvey die Azidität des krebsbefallenen Gewebes dem Werte  $\text{pH} = 6,00$  lag; sie schwankte nicht mehr als 0,1 pH von diesem Säuregrade, obzwar die Aziditäten verschiedener Kartoffelsorten untereinander um pH 0,5 variierten. Die Differenzen der Azidität in den gesunden und erkrankten Knollengeweben verweisen darauf, daß der Krebserreger ein Säureproduzent ist, besonders wenn er erfolgreich in künstlichem Medium gezüchtet wird; er ruft in dem gastgebenden Gewebe einen für seine Entwicklung notwendigen Säuregrad hervor. Im allgemeinen unterstützen die Befunde Weiß-Harveys über den höheren Aziditätsgrad der krebsbefallenen Knollengewebe, bzw. über die Säurebildung durch den Krebserreger die Tatsachen, welche aus meinen Untersuchungen hervorgehen, besonders daß die krebsbefallenen Knollen mit ausgebildeten Wucherungen einen deutlich herabgesetzten Magnesia gehalt aufweisen, denn durch die saure Reaktion des Knollengewebes kann die Abwanderung des leicht ionisierbaren Magnesiumoxyds gefördert werden.

#### Schriftenverzeichnis.

- 1 Wolff, Düngerlehre. XVII. Auflage. S. 218 (1920).
  - 2 Němec, A. Die Phosphorsäure, 4, 352 (1934).
  - 3 Němec, A. Phytopathologische Zeitschrift, 8, 303 (1935).
  - 4 Weiß, Fr. und Harvey, R. B. Journ. of Agric. Research, 21, 589 (1921).
-



# **Untersuchungen zur Frage der Getreiderostbekämpfung mit chemischen Mitteln.**

Von

**G. Gaßner und K. Hassebrauk.**

Inhalt: I. Einleitung. — II. Die Versuchsdurchführung der Hauptversuche. — III. Zusammenstellung der Hauptversuche (Prüfung einer größeren Zahl organischer Verbindungen). — IV. Die beobachteten rosthemmenden Wirkungen der geprüften chemischen Verbindungen. — V. Die Möglichkeit einer chemischen Schutzwirkung durch gasförmige Ausscheidungen der geprüften Stoffe. — VI. Die Frage einer Immunisierung der Versuchspflanzen durch Wurzelaufnahme chemischer Stoffe. — VII. Einige Versuche mit Sulfiden. — VIII. Hauptergebnisse. — IX. Schriftenverzeichnis.

## **I. Einleitung.**

Die vor einigen Jahren im Institut für Landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode durchgeföhrten Versuche über die direkte Bekämpfung der Getreideroste mit chemischen Spritz- und Stäubemitteln hatten zu der Feststellung gefördert, daß unter den geprüften Mitteln fast nur dem Schwefel und dem Kalkstickstoff eine gewisse Wirksamkeit zusprechen ist (Gaßner und Straib, 7, 1930). Die Versuchsergebnisse zeigten jedoch gleichfalls, daß beide Präparate keineswegs als hinlänglich befriedigend wirksame Mittel zur Rostbekämpfung angesehen werden können. In Übereinstimmung mit den Angaben älterer Autoren wurde festgestellt, daß dem Schwefel nur eine vorbeugende Schutzwirkung zu kommt, die sich durch eine Verhinderung der Sporenekeimung erklärt. Da diese Schutzwirkung zeitlich beschränkt ist, müssen zu einer ausreichenden Bekämpfung regelmäßig wiederholte Bestäubungen angewendet werden. Die an sich bessere und länger anhaltende Wirksamkeit des Kalkstickstoffs wird durch gleichzeitig leicht auftretende Verbrennungserscheinungen der Getreideblätter stark eingeschränkt. Die sich gegen die Verwendung des Kalkstickstoffs ergebenden Bedenken wurden dann später von Gaßner und Goeze (3) durch die Feststellung unterstrichen, daß die Assimilationsgröße der mit Kalkstickstoff bestäubten Blätter deutlich herabgesetzt wird; die rosthemmende Wirkung des Kalkstickstoffs erklärt sich also sicherlich durch eine Schädigung der Blätter und ist ohne weiteres verständlich, da das Wachstum der obligat parasitären Rostpilze an das Vorhandensein voll funktionsfähiger Zellen der Wirtspflanze gebunden ist; von einem Pflanzenschutzmittel muß aber gefordert werden, daß die Schädigungsgrenze nicht erreicht wird, zumindest aber, daß der

Nutzen der Schutzwirkung nicht durch die gleichzeitige Schädigung kompensiert wird. Bei dieser Gelegenheit sei noch bemerkt, daß die in Gewächshausversuchen vorliegende Unschädlichkeit von Schwefelbestäubungen in Feldversuchen, insbesondere bei starker Insolation der Pflanzen, nicht immer beobachtet werden kann, so daß wir auch hier mit der Möglichkeit einer Nebenwirkung auf dem Umwege über Schädigungserscheinungen der Blätter rechnen müssen (Beobachtungen in Schlanstedt, Sommer 1928).

Die von Greaney (8) unlängst veröffentlichten Rostbekämpfungsversuche mit Kupfer- und Schwefelpräparaten brachten im wesentlichen nur eine Bestätigung der bereits vorliegenden Erfahrungen. Bestäubungen mit Kupfermitteln führten nur bei einer derart intensiven Anwendung zum Erfolg, daß gleichzeitig Schäden am Getreide auftraten. Und bezüglich des Schwefels zeigte sich wiederum, daß „sulphur dust acts as a protectant“ (S. 85). Drei Stunden nach stattgehabter Infektion vorgenommene Schwefelbestäubungen waren bereits wirkungslos.

Auf Grund unserer früheren Erfahrungen haben wir in den letzten Jahren von weiteren Untersuchungen über Schwefelbestäubungen Abstand genommen. Desgleichen haben wir nach einigen mit Kupferpräparaten zu Spargelrost durchgeföhrten und ergebnislos verlaufenen Bekämpfungsversuchen (Gaßner und Hassebrauk, 6) von der weiteren Prüfung kupferhaltiger Mittel zunächst abgesehen. Die unlängst von Hülsenbergs (11) berichtete günstige Wirkung kupferhaltiger Spritzmittel im Kampf gegen den Spargelrost bedarf der Nachprüfung. Doch müssen wir jetzt schon gegen die optimistische Einstellung Hülsenbergs Bedenken geltend machen. Einmal hatten wir mehrfach Gelegenheit, einige der von Hülsenberg herangezogenen Versuche selbst zu besichtigen, wobei wir uns von der rostunterdrückenden Wirkung der Kupfermittel keineswegs überzeugen konnten. Zum anderen geht aus Hülsenbergs Angaben hervor, daß er unsere Ausführungen über die Möglichkeit einer zu günstigen Bonitierung der mit Kupfermitteln behandelten und darum länger grün bleibenden Pflanzen falsch verstanden hat. Es ist nach unserer Meinung nicht statthaft, aus der grünen Färbung der mit Kupferkalkbrühe bespritzten Parzellen, die „zwar auch Rost aufwiesen“, den Schluß zu ziehen, „daß die schädigende Wirkung des Rostes stark gemindert war“ (vergl. auch die neueren Ausführungen von Menzel, 12).

Nach unseren bisherigen Erfahrungen besteht also wenig Wahrscheinlichkeit, daß wir auf äußerem Wege durch Bestäubungen oder Be spritzungen zu einer befriedigenden Rostbekämpfungsmethode kommen, vor allem, wenn wir außer der zeitlich beschränkten und schon darum unvollkommenen Wirkung dieser Mittel noch die besonderen Verhältnisse des Massenanbaues des Getreides, die lang anhaltende Entwicklung neuer ungeschützter Blattorgane, sowie die sonstigen praktischen und klimatischen Schwierigkeiten in Betracht ziehen.

Zu einer wirklichen und wirksamen Rostbekämpfung mit chemischen Mitteln müßte ein neuer Weg beschritten werden. Ein solcher erscheint unter gewissen, bisher allerdings noch nicht als möglich oder vorhanden bewiesenen Voraussetzungen gegeben, wenn es gelingen sollte, durch chemische Stoffe in das enge Ernährungsverhältnis von Wirtspflanze und Parasit störend einzugreifen, oder gerade diese engen Beziehungen dazu zu benutzen, dem sich vom Plasma der Wirtspflanze ernährenden Pilz durch diese Nahrungsquelle schädigende Substanzen zuzuführen. Wir würden damit zu einer „inneren Chemotherapie“ der Pflanzen kommen, wie sie vor einigen Jahren von A. Müller (13) in einem umfangreichen Buch gefordert und vorgeschlagen ist. Wie aber schon Behrens (1) in einem kritischen Referat über das Müllersche Buch betont, sind die Ausführungen dieses Autors über das Wesen und die Voraussetzungen einer solchen „inneren Chemotherapie“ vom wissenschaftlichen und botanischen Standpunkt aus leider sehr schlecht fundiert, so daß sie eigentlich kaum zu besonderem Studium auf diesem zum mindesten umstrittenen Gebiet ermutigen.

Wir wollen zunächst die praktische Seite des Problems ganz außer acht lassen und die theoretischen Möglichkeiten in den Vordergrund stellen. An sich sind mehrere Wege denkbar, chemische Stoffe in das Innere der Blätter, insbesondere der Blätter von Getreidepflanzen, mit denen wir uns im folgenden ausschließlich befassen, gelangen zu lassen: die Zuführung oder Aufnahme durch die Blätter selbst und die Aufnahme durch die Wurzeln. Die gewaltsame Zuführung irgendwelcher gelöster Substanzen durch eine Injektion ist 1929 von Newton, Lehmann und Clarke versucht (14). Nach diesen Autoren bewirkte eine Injektion von Salicylsäure, Brenzkatechin und Vanillin in geeigneten Konzentrationen bei anfälligen Weizensorten einen Rückgang des Schwarzrostbefalles. Diese allerdings bei anderer Fragestellung durchgeführten Versuche lassen sich immerhin als Hinweis auf die Möglichkeit einer chemotherapeutischen Behandlung deuten; eine Fortsetzung und ein Ausbau dieser Untersuchungen ist aber unseres Wissens nicht erfolgt.

Mit einer anderen Technik und ebenfalls von anderen Gesichtspunkten aus haben wir uns früher selbst mit der Aufnahme gelöster Stoffe durch die Blätter befaßt (5); in dem letzten Abschnitt dieser Arbeit werden wir einige weitere Versuche dieser Art wiedergeben, in denen die Aufnahme chemischer Stoffe dadurch angestrebt wurde, daß die Blätter der Versuchspflanzen in Lösungen dieser Stoffe eingehängt wurden. Praktischen Wert haben solche Versuche naturgemäß auch nicht; immerhin dienen sie insoweit mit zur Klärung des Problems, als wir unter Umständen auch bei der Anwendung von Spritz- und Stäubemitteln mit einer Aufnahme fungizider Stoffe durch die Blätter rechnen dürfen. Allerdings ist diese Möglichkeit gerade bei Getreideblättern höchstens in unbedeutendem Umfange vor-

handen, weil die Wachsschicht dieser Blätter ein wesentliches Hindernis darstellt. Es braucht hier nur darauf hingewiesen zu werden, daß die für Getreidepflanzen verhältnismäßig harmlose Wirkung flüssiger Hederichbekämpfungsmittel gerade darauf beruht, daß diese an den Getreideblättern nicht oder schlecht haften und dementsprechend auch nicht eindringen.

Praktisch dürfte also die Zuführung innertherapeutisch wirksamer Substanzen durch die Blätter auf unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen. Die Frage, ob es überhaupt gelingt, gegen Rostpilze auf innertherapeutischem Wege, also durch künstliche Zufuhr chemischer Stoffe in die pflanzlichen Gewebe der Wirtspflanze etwas zu erreichen, hängt demnach letzten Endes davon ab, ob die Wurzeln der Pflanze solche Stoffe aufnehmen, und ob die Pflanze solche Stoffe in derselben oder doch in einer für den Pilz wirksamen Form in die Blätter und deren Zellen gelangen läßt. Die Aussichten für das Vorliegen einer solchen Möglichkeit mußten im Hinblick auf das bekannte Wahlvermögen der Pflanzenwurzeln für Nährstoffe von vornherein ebenfalls nur als gering angesprochen werden. Immerhin konnte natürlich nur die experimentelle Untersuchung eine richtige Antwort geben.

Derartige Versuche stellen den Hauptteil der folgenden Arbeit dar; wir haben hierbei eine ganze Zahl chemischer Verbindungen in geeigneter Weise auf oder in den Boden gebracht, in welchem die Versuchspflanzen angezogen waren, und die Wirkung auf den Rostbefall der in gleichmäßiger und optimaler Weise geimpften Getreidepflanzen geprüft. Die Auswertung der Versuchsergebnisse erfuhr durch die während der Untersuchungen gemachte Feststellung gasförmiger Neben- oder Hauptwirkung bestimmter Präparate eine unerwünschte Komplikation.

Die Untersuchungen sind durch das Ausscheiden des ersten Verfassers aus den von ihm geschaffenen Braunschweiger Botanischen Instituten leider nicht zu einem endgültigen Abschluß gekommen und werden jetzt von dem zweiten Verfasser allein weiter fortgeführt; über diese noch laufenden Arbeiten wird von Hassebrauk in besonderen Veröffentlichungen berichtet werden.

## II. Die Versuchsdurchführung der Hauptversuche.

Die Prüfung der verschiedenen chemischen Substanzen auf Wirksamkeit gegen Rost erfolgte in Gewächshausversuchen. Nachdem die Versuchspflanzen in üblicher Weise in Blumentöpfen zum Auflaufen gebracht waren, wurden die zu prüfenden Substanzen trocken auf die Bodenoberfläche ausgestreut; da es sich meist um geringe Mengen handelte, mußten diese zum Zwecke einer gleichmäßigen Verteilung vorher mit chemisch inerten Mitteln (Sand, Kaolin, Talkum u. a.) gestreckt werden. Die Töpfe mit den Kontrollpflanzen wurden mit einer entsprechenden Menge der Strecksubstanz bestreut.

Die gewählte Methodik des Aufstreuens der Versuchspräparate auf die Erde der Versuchstöpfe sollte den bei einer Kopfdüngung im Felde vorliegenden natürlichen Verhältnissen nahe kommen. Da das Aufbringen der Präparate erst nach dem Auflaufen der Versuchspflanzen erfolgte, ließ sich gleichzeitig eine schädigende Beeinflussung des Keimprozesses durch die gewählte Versuchsanordnung weitgehend vermeiden. Weiter bestand die Möglichkeit, durch zeitlich verschiedenes Aufstreuen der Präparate und Änderung der zwischen Aufbringen der Prüfsubstanzen und Impfung der Versuchspflanzen liegenden Zeit die Wirkungsdauer der Substanzen genauer zu umschreiben. Ein sich allerdings erst während der umfangreichen Versuchsreihen zeigender Nachteil der gewählten Versuchsmethodik bestand darin, daß das Ausstreuen der Substanz auf die Oberfläche der Versuchstöpfe die Möglichkeit einer Beeinflussung der oberirdischen Pflanzenteile durch flüchtige, aus den verwendeten Chemikalien abgeschiedene Substanzen schafft; wir werden auf diesen für die Beurteilung der Versuchsergebnisse naturgemäß sehr wichtigen Punkt später noch ausführlich einzugehen haben.

Die zu den Versuchen benutzten Töpfe (oberer Durchmesser 13 cm, Höhe 11 cm) enthielten zirka 1250 g Erde, die Bodenoberfläche betrug zirka 125 qcm. In den später mitgeteilten Versuchsprotokollen sind die in den Versuchen gebotenen Präparatemengen als Milligramm wirksame Substanz je Kilogramm Erde, also gleichzeitig je 100 qcm Bodenoberfläche, angegeben. Jedes Präparat ist nach Möglichkeit in vier verschiedenen Aufwandmengen (1,2; 12; 24 und 120 mg Substanz je Kilogramm Boden = 100 qcm Bodenoberfläche) geprüft.

Die Impfung der Versuchspflanzen erfolgte eine gewisse Zeit nach dem Aufbringen der Präparate. Um die Versuchsdauer nicht unnötig zu verlängern und damit die Versuche durch störenden Mehltaubefall zu gefährden, wurde die Impfung spätestens zehn Tage nach dem Ausstreuen der Präparate vorgenommen. — Zur Erzielung eines möglichst starken und gleichmäßigen Infektionserfolges wurden die Pflanzen stets in der früher beschriebenen Weise unter Verwendung eines Wattepinsels mit einer starken Sporenaufschwemmung beimpft und dann zunächst zwei Tage unter Glasglocken gehalten. Während der ganzen übrigen Versuchsdauer standen die Pflanzen frei im Gewächshaus unter den für die verwendete Rostart optimalen Temperatur- und sonstigen Versuchsbedingungen.

Da es sich bei der Rostbekämpfung auf chemischem Wege vor allem darum handeln würde, sonst stark befallene Pflanzen zu schützen, wurden zu den Versuchen nur Getreidesorten herangezogen, die gegen die jeweils zur Impfung benutzten Rostrassen hoch anfällig waren (reiner Infektions-typus IV).

Die Ablesung der Versuchsergebnisse erfolgte wiederholt, das letzte Mal im allgemeinen etwa eine Woche nach Eintritt vollen Pustelausbruches

auf den unbehandelten Kontrollpflanzen. Während sich bei bestimmten Präparaten deutliche Unterschiede bezüglich der Intensität des Pustelausbruches ergaben, blieb der Infektionstypus, abgesehen von vereinzelten, in ihrer Deutung außerdem unsicherer Fällen unverändert. Es braucht also bei den Ablesungen nur die Befallsstärke berücksichtigt zu werden.

Um die Darstellung der Versuchsergebnisse übersichtlich zu gestalten, geben wir im folgenden nicht die jeweils vorliegenden Rostigkeitsgrade der Versuchspflanzen, sondern nur den Unterschied des Rostbefalls im Vergleich zu demjenigen der unbehandelten Kontrollpflanzen wieder, die stets vollen Pustelausbruch und Infektionstypus IV aufwiesen. Es bedeutet:

● ● ● ●	Rost völlig unterdrückt.
● ● ● ○	Rost fast völlig unterdrückt, spurenweise eine Pustel.
● ● ● +	Rost stark unterdrückt, vereinzelte Pusteln.
● ● ○ +	Deutliche Herabsetzung des Rostbefalls, vereinzelte Pusteln bis geringer Befall.
● ● + +	Immer noch deutliche Herabsetzung des Rostbefalls, geringer Befall.
● ○ + +	Mäßige Herabsetzung des Rostbefalls, geringer bis lockerer Befall.
● + + +	Schwache Herabsetzung des Rostbefalls, aufgelockerter Befall.
○ + + +	Sehr geringe Herabsetzung des Rostbefalls, fast voller Befall.
+ + + +	Keine Wirkung auf den Rostbefall, starker gleichmäßiger Befall (wie Kontrollen).

### III. Zusammenstellung der Hauptversuche.

(Prüfung einer größeren Zahl organischer Verbindungen)

Die in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellten Versuchsreihen wurden zum Teil mit *Puccinia simplex* (Rasse 2) auf Friedrichswerther Berg-Wintergerste (= G), zum Teil mit *Puccinia triticina* (Rasse 14) auf Strubes Dickkopfweizen (= W), in vielen Fällen mit beiden Rost- und Getreidearten durchgeführt; vereinzelt fanden auch noch andere, ebenfalls den Infektionstypus IV liefernde Rostrassen Verwendung.

Die in der Tabelle 1 angeführten Substanzen, deren Wirkung auf den Rostbefall geprüft wurde, sind uns fast ausnahmslos von dem Direktor des Chemischen Institutes der Technischen Hochschule Braunschweig, Herrn Professor Dr. Fries, zur Verfügung gestellt, dem wir auch an dieser Stelle für sein Entgegenkommen herzlich danken.

Bei der Einreichung der Chemikalien in Tabelle 1 haben wir die alphabetische Anordnung gewählt, da eine Zusammenfassung nach chemischen Gesichtspunkten wegen der oft unterschiedlichen Wirkung der einzelnen Gruppen keine Vorteile gebracht hätte. Soweit innere Beziehungen zwischen Präparaten vorzuliegen scheinen, ist darauf bei der späteren Besprechung der Ergebnisse kurz hingewiesen.

Tabelle 1.

## Prüfung organischer Verbindungen auf ihre rosthemmende Wirkung.

Versuchsdurchführung: Ausstreuen der Präparate 10 Tage vor der Impfung auf die Bodenoberfläche der Versuchsgefäße.

Rostart bei Weizen (W): *Puccinia triticina*.

Rostart bei Gerste (G): *Puccinia simplex*.

Soweit nicht anders bemerkt ist, wurden Schädigungen der Getreidepflanzen durch die Präparate nicht bewirkt. Die Anmerkungen sind am Schluß der Tabelle zusammengestellt.

Nummer	Präparat	Getreide	Beeinflussung des Rostbefalls bei Gaben von (Milligramm je Kilogramm Boden)			
			1,2 mg	12 mg	24 mg	120 mg
1	Acetamid . . . . .	W				
2	Acetanilid . . . . .	G		O	++++	
3	p-Aceto-o-Kresol . . . . .	W				
4	2-Aceto-1-naphtol . . . . .	W				
5	1-Aceto-2-naphtol . . . . .	W			O+++	
6	Acet-p-phenylen diamin . . . . .	W	++	O		
7	o-Acettoluid . . . . .	W	++			
8	p-Acettoluid . . . . .	G	++	O		
9	Acridin . . . . .	{ G W	++			
10	Amidonaphtholdisulfosäure K .	W				
11	$\beta$ -Aminoanthrachinon . . . . .	W				
12	2,3-Aminonaphtoesäure . . . . .	G	++			
13	m-Aminophenol . . . . .	G	++			
14	Amino-pseudazimidobenzol-N-phenylsulfosäure . . . . .	W			O++++ <sup>4)</sup>	
15	Anilinchlorhydrat . . . . .	G	++			Pflanzen tot
16	$\alpha$ -Anisaldoxim . . . . .	W	++			
17	$\beta$ -Anisaldoxim . . . . .	W	++			
18	Anthracen . . . . .	G	++			
19	Anthrachinon . . . . .	G	++	O		
20	Anthrachinon- $\beta$ -sulfosaures Natrium . . . . .	G	++			
21	Anthranilsäure . . . . .	G	++			
22	Auramin G . . . . .	G	++			
23	Azimidobenzol . . . . .	W	++			
24	Azobenzol . . . . .	G	++			
25	Benzamid . . . . .	{ W	O	O	++	
26	Benzidin . . . . .	W				
27	Benzilsäure . . . . .	G				
28	Benzochinon . . . . .	G		O		
29	Benzocumaron . . . . .	W				
30	Benzoesäure . . . . .	W				
31	Benzoin . . . . .	G				
32	Bernsteinsäure . . . . .	G				
33	m-Brombenzoësäure . . . . .	W				
34	6-Brom-1-methyl-2-naphtol . . . . .	G	++			
35	1-Brom-2-naphtol . . . . .	{ G W	++			
36	1-Brom-2,3-oxynaphtoesäure . . . . .	G				
37	4-Bromphenyldisulfid . . . . .	W				
38	3-Bromphitalsäure . . . . .	G				
39	Campher . . . . .	G				
40	Carbazol . . . . .	W				

1) O

2) O

3) O

4) O

5) O

6) O

7) O

8) O

9) O

10) O

11) O

Nummer	Präparat	Getreide	Beeinflussung des Rostbefalls bei Gaben von (Milligramm je Kilogramm Boden)			
			1,2 mg	12 mg	24 mg	120 mg
41	Carbazolmonosulfosaures Natrium . . . . .	W				
42	Chinaldin . . . . .	G	+++			
43	Chinizarin . . . . .	W				
44	Chinolin . . . . .	W	++			
45	Chloranil . . . . .	{ G W	O++	●○	●○++	●●●○
46	2-Chlor-3-anilido-1,4-naphto- chimon . . . . .	W	++			
47	m-Chloranilin . . . . .	G	O	●		
48	Chloranthrachinon . . . . .	W	/			
49	$\beta$ -Chloranthrachinon . . . . .	W				
50	o-Chlorbenzoësäure . . . . .	W				
51	Chlorbenzol . . . . .	W	++	+		
52	Chlor-1-oxy-2-naphthalin . . . . .	G	++			
53	Chlor-1-oxy-2-naphthalin- carbonsäure-3 . . . . .	{ G W	+++	+++		
54	p-Chlorphenol . . . . .	W				
55	Chrysoidin . . . . .	W				
56	Crotonaldehyd . . . . .	G	++			
57	Cyclohexanol . . . . .	G	++			
58	1-Cystin . . . . .	W				
59	Dekalin . . . . .	W	++	+		
60	Diacetyl dioxim . . . . .	W	++			
61	2,2'-Dibenzoyl-4,4'-dinitro- diphenyldisulfid . . . . .	W				
62	p-Dibrombenzol . . . . .	G	++			
63	2,6-Dibrom-4-chlorphenol . . . . .	G	++	Pflanzen meist tot		Pflanzen tot
64	3,5-Dibrom-4,6-dimethyl- phenol . . . . .	W				
65	Dibrom-p-kresol . . . . .	G	++			
66	1,6-Dibrom- $\beta$ -naphthol . . . . .	{ G W	++			
67	1,6-Dibrom- $\beta$ -naphthylamin . . . . .	{ G W	++	●○++		
68	Dibromresorcylsäure . . . . .	W				
69	p-Dichlorbenzol . . . . .	G	++			
70	Dichlorchinonoxalin . . . . .	W				
71	Dichlornaphthochinon . . . . .	G	++			
72	Dichlorthianthren . . . . .	W	++			
73	4,6-Dimethyleumaranon . . . . .	{ G W	++			
74	Dimethylhydroresorein . . . . .	W				
75	Dimethylhystazarin . . . . .	W				
76	3,6-Dimethyl-4-oxybenzal- dehyd . . . . .	W				
77	Dinatriumguajakolsulfonat . . . . .	G	++			
78	2,4-Dinitranilin . . . . .	{ G W	++			
79	Dinitrobenzol . . . . .	{ G W		●○++	Pflanzen meist tot	Pflanzen tot
80	Dinitrodiphenylamin . . . . .	W	++			
81	1,8-Dinitronaphthalin . . . . .	W				

Nummer	Präparat	Getreide	Beeinflussung des Rostbefalls bei Gaben von (Milligramm je Kilogramm Boden)			
			1,2 mg	12 mg	24 mg	120 mg
82	Dinitrophenol . . . . .	G W	++++	O+++	●+++	● Pflanzen meist tot
83	2,4-Dinitrophenyldisulfid .	W		++	-	
84	Dinitroresorcin . . . . .	W		++	++	
85	Dioxan . . . . .	W	++++	++	++	
86	1,6-Dioxynaphthalin-3,6-disul- fosäure . . . . .	W		+++	+++	
87	1,8-Dioxynaphthalin-3,6-disul- fosäure . . . . .	W	++++	++	++	
88	Diphenylcarbonat . . . . .	W		++	++	○
89	Eosin . . . . .	G		++	++	
90	p-Formaldehyd . . . . .	G		++	++	
91	2-Formyl-4-nitrophenyldisulfid	W		++	++	○
92	$\alpha$ -Glycerylphenyläther . . . . .	W			○+++	○
93	Glykokolläthylesterhydro- chlorid . . . . .	W				
94	Glykokollchlorhydrat . . . . .	W			++ 16)	++ 16)
95	Guajakol . . . . .	W			++ 16)	++ 16)
96	Heptachlorresorcin . . . . .	G				
97	Hydrochinon . . . . .	G				
98	$\alpha$ -Isatin . . . . .	G				○
99	m-Kresol . . . . .	G				
100	Metanilsäure . . . . .	G	●	●		
101	Methoxy-5-methyl-2-indoxacen	W			+++	●
102	4-Methyl-6-chlor-3-oxythio- naphthen . . . . .	W			○+++	●+ 16)
103	Methylgrün . . . . .	G				
104	Methylnaphtol . . . . .	G				
105	1-Methyl-4-nitro-azimidobenzol	W				
106	Monochloressigsäure . . . . .	G				
107	Naphtalin . . . . .	G				
108	2,3-Naphthalindicarbonsäure- anhydrid . . . . .	W		○++	○++	●++ ○
109	$\alpha$ -Naphtol . . . . .	G W	○+++	●●	●●○+	●●●●○
110	$\beta$ -Naphtol . . . . .	G W	●	●		
111	2-Naphtol- $\delta$ -disulfosäure . .	W				
112	2-Naphtol-6-sulfosäure . . .	W				
113	$\beta$ -Naphtol- $\alpha$ -sulfosaures Natrium . . . . .	W				○++
114	$\beta$ -Naphtylaminacetat . . . .	W				
115	Saures $\beta$ -naphtylamindisulfo- saures Natrium . . . . .	W				
116	2,3-Naphtylendiamin . . . . .	W		○	○++	●
117	o-Nitranilin . . . . .	G W	++++	++		16)
118	3-Nitro-2-acetylamino-toluol .	G	+++	++	++	
119	o-Nitrobenzaldehyd . . . . .	W			●+++	●
120	Nitrobenzol . . . . .	W				
121	Nitrodibrombenzol . . . . .	G W	++++	●○	●○	●●●●● 16)
122	o-Nitro-p-kresol . . . . .	W				
123	o-Nitrophenol . . . . .	W				○
124	2-Nitrophenyldisulfid . . . . .	W				
125	Nitro-2-resorcin . . . . .	G				Pflanzen tot

Nummer	Präparat	Getreide	Beeinflussung des Rostbefalls bei Gaben von (Milligramm je Kilogramm Boden)			
			1,2 mg	12 mg	24 mg	120 mg
126	Nitrosobenzol . . . . .	W				
127	m-Nitro-p-toluidin . . . . .	W	++++			
128	Orange II . . . . .	W				
129	p-Oxyacetophenon . . . . .	W				
130	$\beta$ -Oxyaceto-phenonbenzoat . . . . .	W				
131	1-Oxyanthrachinon . . . . .	G	++++			
132	Oxychinolin . . . . .	W				
133	p-Oxychinolin . . . . .	G	++++			
134	Oxy-2-methyl-5-acetophenon . . . . .	W				
135	2,3-Oxynaphtoesäure . . . . .	G	++++			
136	Oxy-phenyl-pseudazimido- benzol . . . . .	W				
137	Päonoxlim . . . . .	W				
138	Palmitinsaures Natrium . . . . .	G	++++			
139	Phenacetolin . . . . .	W				
140	Phenanthren-chinon . . . . .	G	○+++	●		
141	Phenol . . . . .	G	○	●		
142	Phenolphthalein . . . . .	W				
143	o-Phenyldiamin . . . . .	W				
144	Phenyl-1-nitro-5-benzotriazol . . . . .	W				
145	N-Phenyl-2-oxy-pseudoazimi- dobenzol . . . . .	W				
146	Phtalimid . . . . .	G				
147	Phtalsäureanhydrid . . . . .	G				
148	Pikrinsäure . . . . .	{ G W	++++			
149	Resorcin . . . . .	G				
150	Resorcindibenzoat . . . . .	W				
151	R-Salz . . . . .	{ G W	++++			
152	Salicylsäure . . . . .	G	++++			
153	Saligenin . . . . .	W	++++			
154	Salol . . . . .	G	++++			
155	Säurefuchsin . . . . .	G	++++			
156	Schiffsche Base . . . . .	W	++++			
157	Schleimsäure . . . . .	G	++++			
158	Stilben . . . . .	W	++++			
159	Sulfanilsäure . . . . .	G	++++			
160	o-Sulfonylbenzaldehyd . . . . .	G	++++			
161	Sulfoharnstoff . . . . .	{ G W	++++	●●		
162	Tetraaethylammoniumjodid . . . . .	G	++++			
163	Tetrachlor-p-kresol . . . . .	G	++++	●●++ <sup>19)</sup>	Pflanzen tot	Pflanzen tot
164	Thianthren . . . . .	W	++++	●●++ <sup>20)</sup>	○+++ <sup>20)</sup>	○ <sup>20)</sup>
165	Thiosalicylsäure . . . . .	G	++++			
166	Tolan . . . . .	{ G W	++++	○●	●○++	●●○+
167	p-Toluolsulfochloramid- Natrium . . . . .	{ G				
168	3,4,6-Tribrom-1,2-naphto- chinon . . . . .	{ W	++++ <sup>6)</sup>	●●●● <sup>22)</sup>	●●●● <sup>22)</sup>	●●●● <sup>15)</sup>
169	1,4,6-Tribrom- $\beta$ -naphtol (158°)	W	++++			
170	1,4,6-Tribrom-2-naphtol . . . . .	G	++++			
171	2,4,6-Tribrom-phenol . . . . .	G	++++			
172	Xylenol (symm.) . . . . .	G	○○ <sup>15)</sup>	Pflanzen tot	Pflanzen tot	
173	m-Xylydin . . . . .	W				
174	Zimtsäure . . . . .	G				

## Anmerkungen zu Tabelle 1.

- 1) Geschädigt.
- 2) Stark verzögerte Pustelbildung.
- 3) Chlorose und Spitzennekrose der ersten Blätter.
- 4) Die Infektionsstelle mit marmorierender Chlorose.
- 5) Sehr stark gestaucht, aber mehr Blätter als die Kontrollen, zum Teil bestockt. Streifenchlorose.
- 6) Geringe Spitzenschäden der ersten Blätter.
- 7) Zuweilen chlorotisch marmoriert.
- 8) Hellchlorotisch. Nicht beimpft.
- 9) Die Blätter sind sehr spröde und brüchig.
- 10) Streifige Chlorose zwischen den Blattnerven.
- 11) Erste Blätter zuweilen mit nekrotischen Zonen.
- 12) Die Fruktifikation ist um zwei Tage verzögert.
- 13) Schlechte Ausbildung der einzelnen Uredolager.
- 14) Geringe Spitzenschäden der ersten Blätter. Die Fruktifikation ist um mehr als drei Tage verzögert; die erste Ablesung ergab: 12 mg = ●●+++, 24 mg = ●●●○+.
- 15) Sehr stark geschädigt.
- 16) Pflanzen besser entwickelt als die Kontrollen.
- 17) Zweite Blätter fast tot. Pflanzen stärkst im Wuchs gehemmt.
- 18) Schwache Nekrosen. Statt der Uredolager häufig schwarze nekrotische Punkte im Aussehen von Teleutosporenlagern.
- 19) Einige Pflanzen etwas geschädigt.
- 20) Starke chlorotische Aufhellung der Infektionszone.
- 21) Starke Wuchshemmung.
- 22) Starke Spitzenschäden.
- 23) Schädigung so stark, daß der Rostbefall nicht bewertet werden kann.

#### IV. Die beobachteten rosthemmenden Wirkungen der geprüften chemischen Verbindungen.

Den folgenden Ausführungen seien zunächst nur die tatsächlichen Beobachtungen der im vorigen Abschnitt (Tabelle 1) enthaltenen Versuchsreihen zugrunde gelegt, ohne jetzt schon auf die wichtige Frage einzugehen, in welcher Weise die bei bestimmten Präparaten zutage tretende rosthemmende Wirkung zustande kommt. Wir wollen deshalb zunächst hier auch nicht von einer immunisierenden, sondern ganz allgemein und absichtlich unbestimmt nur von einer rosthemmenden Wirkung der in Frage kommenden Präparate sprechen.

Soweit eine solche Wirkung vorliegt, äußert sie sich, wie bereits kurz erwähnt, in einer Unterdrückung der Pustelbildung, also in einer Herabsetzung der Befallstärke, während der Infektionstypus als solcher unverändert bleibt. Nur in wenigen, in den Anmerkungen von Tabelle 1 besonders erwähnten Fällen könnte der Einfluß der Präparate insofern als schwache Verschiebung des Infektionstypus gedeutet werden, als die beimpften Blätter bei gleichzeitigem Rückgang des Pustelausbruches eine mehr oder weniger starke marmorierende Chlorose aufwiesen. Im allgemeinen aber vollzog sich die Wirkung so, daß von einer gewissen Auf-

wandmenge ab die Zahl der auftretenden Pusteln unvermittelt eine Veränderung erfährt oder die Pustelbildung ganz unterdrückt wird. Soweit aber noch Pusteln vorliegen, zeigen diese unverändert und bis zuletzt, d. h. bis zur völligen Unterdrückung der Pustelbildung durch stärkere Gaben den höchsten Infektionstypus IV. Das ist um so auffallender, als es bei einigen Substanzen (so bei den Präparaten 67 und 117) gleichzeitig zu einer besonders mangelhaften Ausbildung der einzelnen, an sich zum Teil schon „aufgelockerten“ Uredolager kommt und als einige andere Präparate, so die Nr. 8, 51, 59 und vor allem 70 bei gleichbleibendem Bilde der Rostlager und Infektionsstellen eine wesentliche Verlängerung der Fruktifikationsdauer bewirken. In dieser Konstanz des Infektionstypus bei gleichzeitiger Herabsetzung der Befallstärke unterscheiden sich die in den Versuchen des vorhergehenden Abschnittes gemachten Feststellungen grundsätzlich von unseren früheren Beobachtungen über Resistenzverschiebungen durch Änderung der Mineralsalzernährung, bei denen gerade die Veränderung des Infektionstypus, wie wir sie für die resistenz erhöhende Wirkung starker Kaligaben oder als Wirkung von Stickstoffmangel beschrieben haben, das charakteristische Merkmal abgegeben hat. (Vgl. Gaßner und Hassebrauk, 4).

Die Versuche sind mit zwei Rostarten (*Puccinia simplex* und *P. triticina*) auf zwei Getreidearten (Gerste und Weizen) durchgeführt. Soweit die angewendeten Präparate den Rostbefall deutlich hemmen, liegt diese Wirkung stets bei beiden Rostarten vor. Im einzelnen zeigen sich dabei allerdings zuweilen gewisse quantitative Unterschiede des Wirkungsgrades. So unterdrückt Nitrodibrombenzol (121) den Gerstenzwergrost stärker als den Weizenbraunrost, während bei Acridin (9) und Tolan (166) das umgekehrte Verhältnis vorliegt.

Aus den bisher gewonnenen Beobachtungen kann noch keine endgültige Schlußfolgerung gezogen werden, ob die auftretenden Unterschiede jeweils mit Eigentümlichkeiten der verwendeten Rostarten oder mit bestimmten Eigenschaften der zu den Versuchen verwendeten Nährpflanzen in Verbindung stehen. Denn während einerseits die Prüfung mit verschiedenen Rostrassen mehrfach keine unterschiedliche Einwirkung der Präparate zutage treten ließ, zeigten einige noch zu erwähnende Versuche mit Nitrodibrombenzol und Chloranil (S. 442) eine offensichtlich spezifische Wirksamkeit dieser Substanzen gegenüber *P. simplex* und *P. triticina*.

Im übrigen aber brauchen wir die eben erwähnten Verschiedenheiten des Wirkungsgrades einiger Präparate bei den folgenden Beforschungen nicht weiter zu berücksichtigen, da es sich höchstens um graduelle Verschiedenheiten handelt; an sich liegt die Wirkungsweise der Präparate bei allen verwendeten Rostarten und Getreideformen in der gleichen Richtung.

Von den in den Versuchen von Tabelle 1 geprüften 174 chemischen Verbindungen weist nur der kleinere Teil eine rosthemmende Wirkung auf. Zu den bezüglich der Rostunterdrückung an erster Stelle stehenden Substanzen gehören Acridin (9), Nitrodibrombenzol (121), Pikrinsäure (148) und p-Toluolsulfochloramidnatrium (167). Eine recht starke Beeinflussung des Rostbefalles wurde ferner durch  $\alpha$ -Naphtol (109), Thioharnstoff (161), 1-Brom-2-Naphtol (35), Tolan (166), Chloranil (45) und Dimethylcumaron (73) erzielt. Zu denjenigen Präparaten, bei denen wir, häufig allerdings nur bei stärkeren Gaben, schwächere, jedoch immer noch eindeutige Wirkungen auf den Rost beobachten können, zählen die Nummern 2, 5, 14, 23, 25, 28, 42, 44, 53, 60, 67, 82, 100, 102, 108, 110, 116, 117, 119, 127, 143 und 162. Bei geringen, noch nicht zu stark schädigenden Aufwandmengen übten die Präparate Nr. 28 und 163 eine bemerkenswerte Rosthemmung aus. Von der Anführung einiger weiterer Präparate, die nur ganz geringe Wirkungen zeigen, soll abgesehen werden, obwohl auch diese schwachen Wirkungen sicherlich nicht auf Zufälligkeiten beruhen.

Die naheliegende Frage, auf welche Gruppen oder Bestandteile des Moleküls die rosthemmende Wirkung der verschiedenen Präparate zurückzuführen ist, läßt sich bei dem gegenwärtigen Stand der Untersuchungen schon deshalb nicht eindeutig beantworten, weil sich im Laufe der Arbeiten herausstellte, daß die Wirkungsweise der Präparate durchaus nicht einheitlich ist, daß vielmehr zum mindesten zwei ganz verschiedene Wirkungsweisen der Präparate vorliegen. Jmmerhin lassen sich, unbeschadet der hierdurch bedingten Unsicherheit, einige Vermutungen aussprechen. Wenn z. B. das p-Toluolsulfochloramidnatrium (167) zu den stark wirkenden Präparaten gehört, und wenn wir unter den übrigen wirksamen Substanzen dann dem Tolan (166), dem Nitro-p-Toluidin (127), dem p-Acet-toluid (8), wie mehrfach der Sulfogruppe (14, 113, 161) und den Halogenen (35, 37, 53, 66, 67, 102, 121, 162, 163 u. a.) begegnen, so besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß einmal dem Benzolkohlenwasserstoff Toluol, daneben aber auch der Sulfogruppe und dem Chlor eine Wirksamkeit zukommt. Weiter scheint es kein Zufall zu sein, daß sich unter den gut wirkenden Substanzen zwei (121, 148) befinden, die eine oder mehrere Nitrogruppen enthalten, und daß sich die Nitrogruppe dann häufig auch unter sonstigen Substanzen mit mehr oder minder großer Wirksamkeit feststellen läßt (78, 82, 91, 117, 119, 121, 123, 127). Anderseits aber haben wir in den Präparaten 61, 79, 81 u. a. Fälle, in denen die festgestellte Wirkungslosigkeit überrascht, weil man nach der empirischen Zusammensetzung auf Grund der Wirksamkeit verwandter Stoffe eine rosthemmende Wirkung erwarten könnte.

Es hat nun, wie wir schon andeuteten, keinen Zweck, sich ohne vorhergehende Klarstellung der Wege, auf denen die rosthemmende Wirkung

der Präparate zustande kommt, mit der Spezialfrage nach den Beziehungen von chemischer Struktur und Rostwirkung zu befassen. Wir stellen deshalb diese Frage auf eine spätere Zeit zurück.

Bevor wir in den beiden folgenden Abschnitten auf die kausale Erklärung der rosthemmenden Wirkung gewisser chemischer Stoffe und die Bedeutung unserer Feststellungen für das Immunitätsproblem eingehen, sei zunächst noch ein Versuch kurz erwähnt, in dem die Zeit zwischen Aufbringen der Präparate und Impfung der Versuchspflanzen variiert wurde. In den Hauptversuchen der Tabelle 1 erfolgte die Impfung im allgemeinen zehn Tage nach dem Ausstreuen der Präparate; in der folgenden Tabelle 2 ist eine Versuchsreihe mit Nitrodibrombenzol (121) wiedergegeben, das in Mengen von 20 bis 120 mg je kg Boden = 100 qcm Bodenoberfläche 3, 6 und 10 Tage vor der Impfung ausgestreut war.

Tabelle 2.

**Rostunterdrückende Wirkung von Nitrodibrombenzol**

**bei verschieden langer Verabreichung vor der Impfung der Versuchspflanzen.**  
Versuchsdurchführung: Aufstreuen des Präparates auf die Bodenoberfläche der Versuchsgefäße.

Versuchssorte: Friedrichswerther Berg-Wintergerste.

Rostart und -rasse: *Puccinia simplex*, Rasse 2.

Aufbringen des Präparates vor der Impfung (Tage)	Beeinflussung des Rostbefalls bei Gaben von (Milligramm je Kilogramm Boden)					
	20 mg	24 mg	30 mg	40 mg	60 mg	120 mg
10	●○++	●○++	●○○+○	●○○+○	●○○○○ <sup>1)</sup>	●○○○○ <sup>1)</sup>
6	●○○+○	●○○+○	●○○○+○	●○○○+○	●○○○○ <sup>1)</sup>	●○○○○ <sup>1)</sup>
3	●○○+○	●○○+○	●○○○+○	●○○○+○	●○○○○ <sup>1)</sup>	●○○○○ <sup>2)</sup>
						tot

Das Ergebnis des vorstehenden Versuches ist insoweit von einem gewissen Interesse, als es zeigt, daß die Wirkung des Nitrodibrombenzols eindeutig und voll hervortritt, wenn zwischen Aufbringen des Präparates und Impfung nur eine Frist von drei Tagen liegt; Verlängerung auf zehn Tage bewirkt bereits eine schwache, aber eindeutig feststellbare Abschwächung der Wirkung.

## V. Die Möglichkeit einer chemischen Schutzwirkung durch gasförmige Ausscheidungen der geprüften Stoffe.

Die in dem Ausstreuen der Präparate auf die Bodenoberfläche der Versuchsgefäße bestehende Versuchsdurchführung war im Hinblick darauf gewählt, daß nur ein nach der Art der Kopfdüngung durchgeföhrtes Aufbringen chemischer Substanzen eine praktische Möglichkeit für die

<sup>1)</sup> Geringe Spitzenschäden.

<sup>2)</sup> Starke nekrotische Schäden.

Behandlung größerer Flächen bieten würde. Die Impfung der Versuchspflanzen erfolgte, wie geschildert, eine bestimmte Anzahl von Tagen nach Zugabe der Prüfsubstanzen. Dann kamen die Versuchsgefäße in üblicher Weise zur Herstellung einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre und Sicherung des Impferfolges für zwei Tage in die feuchte Kammer, um von da ab wieder frei im Gewächshaus zu stehen.

Die vorübergehende Aufstellung und Belassung der beimpften Pflanzen unter mehr oder minder dicht abgeschlossenen Glasglocken schafft naturgemäß die Möglichkeit, daß es bei solchen chemischen Stoffen, die flüchtige Substanzen in die Luft abgeben, während dieser Zeit zu einer Anreicherung der gasförmigen Ausscheidungen kommt, die die Versuchsergebnisse unter Umständen beeinträchtigen können. Auf jeden Fall mußte diese Möglichkeit einer experimentellen Prüfung unterzogen werden, um Fehlschlüssen bei der Deutung der Versuchsergebnisse vorzubeugen.

Es wurden also möglichst solche Präparate, die eine besonders gute rostunterdrückende Wirkung erkennen ließen, gesondert nochmals daraufhin untersucht, ob diese Wirkung durch abgeschiedene gasförmige Stoffe zustandekommt oder als Effekt einer Stoffaufnahme durch die Wurzeln gedeutet werden kann. Zu diesem Zweck wurden ein mit der Substanz bestreuter Topf und ein sonst unbehandelter Versuchstopf gemeinsam für 48 Stunden unter dieselbe große Glasglocke gestellt; beide Töpfe enthielten Pflanzen, die vor dem Einstellen unter die Glasglocke mit Rost beimpft waren. Parallel gingen natürlich Kontrollversuche mit Pflanzen unter Glocken ohne Substanz. Nach dem 48 stündigen Aufenthalt der Pflanzen unter Glocken standen die Töpfe in üblicher Weise frei im Gewächshaus. Die Ergebnisse einer solchen Versuchsreihe mit verschiedenen chemischen Stoffen sind in der folgenden Tabelle 3 wiedergegeben.

Von den geprüften Präparaten wirkten also Chloranil, Dimethylcumaranon,  $\alpha$ -Naphtol und Nitrodibrombenzol auf gasförmigem Wege, während für Acridin, 1-Brom-2-Naphtol, Pikrinsäure und p-Toluolsulfochloramidnatrium eine nicht gasförmige Wirkung nachgewiesen werden konnte.

Die vorstehenden Befunde wurden noch durch folgenden Versuch gesichert.  $\alpha$ -Naphtol wurde in üblicher Weise auf die Bodenoberfläche ausgestreut und die Pflanzen dieses Topfes beimpft. Vor dem Einstellen des Topfes unter die Glocke wurde ein Teil der Pflanzen in Glaskolben gasdicht eingeschlossen. Das Ergebnis war eindeutig: die in Glaskolben eingeschlossenen Pflanzen brachten vollen Impferfolg, die ungeschützt zwei Tage in der feuchten Kammer gehaltenen Pflanzen des gleichen Topfes blieben rostfrei. Damit ist bewiesen, daß Präparate vom Typus des  $\alpha$ -Naphtols ausschließlich gasförmig wirken.

Tabelle 3.

Prüfung verschiedener chemischer Substanzen auf Wirksamkeit durch gasförmige Ausscheidungen

Versuchsdurchführung: Siehe Text.

G=Gerste mit *Puccinia simplex*, Rasse 18. W=Weizen mit *Puccinia triticina*, Rasse 53.

Angewandte Menge der Substanzen:

120 mg je Kilogramm Boden = 100 qcm Bodenoberfläche des „Topfes mit Substanz“.

Nummer	Präparat	Getreide	2 Tage Versuchsglocke, dann frei		2 Tage Kontrollglocke	Wirkung des Präparates		
			Rostbefall der Pflanzen im					
			Topf mit Substanz	Topf ohne Substanz				
9	Acridin	G	Unbedeutende Herabsetzung des Rostbefalls	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
		W	Vereinzelte Pusteln am Blattgrunde	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
35	1-Brom-2-Naphtol	G	Vereinzelte Pusteln, bestenfalls sehr geringer Befall	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
		W	Nur vereinzelte Pusteln	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
45	Chloranil	G	Sehr geringer Pustelausbruch	Sehr geringer Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Gasförmig		
		W	Lockerer Pustelausbruch	Lockerer Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Gasförmig		
73	4,6-Dimethylcumaranon	G	Vereinzelte Pusteln bis geringer Befall	Lockerer Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Zumindest teilweise gasförmig		
		W	Aufgelockerter Befall	Aufgelockerter Befall	Voller Pustelausbruch	Gasförmig		
109	$\alpha$ -Naphtol	W	Spurenweise eine Pustel	Sehr geringer Rostbefall	Voller Pustelausbruch	In erster Linie gasförmig		
121	Nitrodi-brombenzol	G	Vereinzelte Pusteln	Vereinzelte Pusteln	Voller Pustelausbruch	Gasförmig		
		W	Lockerer Befall	Lockerer Befall	Voller Pustelausbruch	Gasförmig		
148	Pikrinsäure	G	Vereinzelte Pusteln	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
		W	Kein Rostbefall	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		
167	p-Toluolsulfon-chloramid-natrium	W	Kein Rostbefall	Voller Pustelausbruch	Voller Pustelausbruch	Nicht gasförmig		

Bei der Wirkung des  $\alpha$ -Naphthols handelt es sich, wie weitere Versuche zeigten, um eine toxische Schädigung der Rostsporen; es ist verständlich, daß keine Infektionen eintreten, wenn die Sporenenkeimung unterbunden ist. Zur Feststellung der  $\alpha$ -Naphtolwirkung auf die Sporenenkeimung wurden mit 1%igem Agar begossene Objektträger mit Braunrostsporen bestäubt und für 24 Stunden teils unter Glocken mit gewöhnlichen Versuchstöpfen, teils unter Glocken gehalten, in denen ein Topf stand, der in üblicher Weise mit 120 mg  $\alpha$ -Naphtol bestreut war. Während die Kontrollen zu 95% keimten, unterblieb jede Sporenenkeimung, wenn gleichzeitig mit dem Objektträger ein Topf mit frisch aufgebrachtem  $\alpha$ -Naphtol in die Glocke gestellt wurde. Stand der Topf mit  $\alpha$ -Naphtol zunächst frei im Gewächshaus und kam dann erst nach fünf Tagen mit einem frisch mit Sporen beschickten Objektträger unter die Glasglocke, so keimten etwa 75% der Sporen nicht mehr aus; die keimenden 25% zeigten außerdem ein anormales Verhalten: die Keimschläuche stellten nach kurzer Zeit ihr Wachstum ein und wiesen knorpelige Verdickungen und geweihartige Verzweigungen auf. Einmal behandelte Sporen erholten sich nicht, wenn sie anschließend in eine feuchte Kammer mit reiner Luft gebracht wurden. Dies erklärt sich wohl zum guten Teil dadurch, daß die Agarschicht, soweit die Geruchsprobe ein Urteil zuläßt, gewisse Mengen von  $\alpha$ -Naphtol absorbiert hatte.

Entsprechende Beobachtungen einer keimungshemmenden Wirkung wurden auch mit anderen gasförmig wirkenden Substanzen gemacht. Bei Dimethylcumaranon keimen die Sporen wohl noch normal aus; nach kurzer Zeit aber wird das Weiterwachsen der Keimschläuche plötzlich sistiert, ohne daß es dabei gleichzeitig zu den bei  $\alpha$ -Naphtol beobachteten Deformationen kommt.<sup>1)</sup> — Ungeklärt ist noch die gasförmige Wirkung des Chloranil, da der Keimungsverlauf der Sporen hier durchaus normal war.

Mit der Feststellung einer keimschädigenden Wirkung gasförmiger Ausscheidungen auf Rostsporen ist also für eine ganze Anzahl von Präparaten die rosthemmende Wirkung dieser Stoffe aufgeklärt. Wichtig ist, daß es sich dabei um eine spezifische Wirkung auf Rostsporen zu handeln scheint, denn die Getreidepflanzen brauchen durch diese Präparate in Aufwandmengen, die den Rostbefall unterdrücken, noch durchaus nicht geschädigt zu werden. Der chemotherapeutische Index  $\frac{c}{t}$  liegt also sehr günstig, da die Giftwirkung auf Rostsporen mit einer weitgehenden Unschädlichkeit für die grüne Pflanze vereinigt scheint.

<sup>1)</sup> Zuweilen wurden runde sporenhähnliche Anschwellungen am Ende der kurzen Keimschläuche beobachtet, in denen der gesamte Sporenhalt konzentriert ist, während Spore selbst und Keimschlauch völlig geleert sind. Es handelt sich hier offenbar um die Bildung von Sekundärkörpern, wie sie u. a. von Sappin-Trouffy (Le Botaniste 5, 1896, 59) bei anormaler Keimung von *Puccinia graminis* und anderen Rostpilzen beschrieben und abgebildet ist.

In einigen auf unsere Veranlassung von Herrn Dr. Goeze durchgeföhrten Versuchsreihen wurde außerdem verschiedentlich auch die AssimilationsgröÙe solcher Pflanzen nachgeprüft, bei denen jede Rostinfektion durch gasförmige Einwirkung von auf den Boden ausgestreuten Stoffen unterblieben war. Dabei konnten Depressionen der AssimilationsgröÙe nicht festgestellt werden.

Die Frage, ob Präparate vom Typus des  $\alpha$ -Naphtol, die also auf gasförmigem Wege durch Unterbindung der Sporenkeimung den Rost unterdrücken, bei Anwendung als Kopfdünger den Rostbefall im Felde praktisch hemmen können, ist nicht mit Sicherheit zu bejahen, da hier natürlich ganz andere Verhältnisse vorliegen als bei den nach der Impfung vorübergehend unter Glocken gehaltenen Versuchspflanzen. Anderseits deuten die Gewächshausbeobachtungen darauf hin, daß die Wirkung dieser Präparate, also die Abscheidung flüchtiger toxischer Stoffe, zum Teil doch recht anhaltend ist, da sich unter Gewächshausbedingungen eine rosthemmende Wirkung der auf den Boden gestreuten Präparate mit gasförmiger Wirkungsweise auch noch feststellen läßt, wenn zwischen Aufbringen der Präparate und der Impfung mehrere Wochen liegen. Da bestimmte Präparate dieser Art außerdem für Getreidepflanzen weitgehend unschädlich sind, erscheint es vielleicht möglich, sie an Stelle von Schwefel als Stäubemittel mit Erfolg anzuwenden.

## VI. Die Frage einer Immunisierung der Versuchspflanzen durch Wurzelaufnahme chemischer Stoffe.

In den folgenden Betrachtungen und Ausführungen müssen naturgemäß alle diejenigen Präparate außer acht gelassen werden, bei denen gasförmige Wirkungen nachgewiesen oder zu vermuten sind. Damit reduziert sich die Zahl der von uns als „wirksam“ gefundenen chemischen Substanzen; immerhin bleibt noch eine größere Zahl solcher Präparate übrig, deren Wirkung wir bei dem gegenwärtigen Stand unserer Versuche kaum anders als so deuten können, daß ein Teil der aufgebrachten Präparatmengen im Boden in Lösung geht, von den Wurzeln aufgenommen wird und auf diesem Wege die Verschlechterung oder auch Unterdrückung des Rostbefalles bewirkt. Als Standardpräparat dieser Wirkungsweise können wir die Pikrinsäure ansprechen.

Es ist nun eine sehr schwierige und nicht ohne weiteres zu beantwortende Frage, ob wir in allen Fällen, in denen die Rostunterdrückung nicht durch flüchtige Substanzen bewirkt wird, von einer echten „Immunisierung“ auf chemischem Wege sprechen dürfen (Fischer-Gäumann, 2, S. 76). Offensichtlich liegen in der Wirkungsweise der einzelnen Präparate ebenfalls noch Unterschiede vor. Wenn eine rosthemmende Wirkung sich so vollzieht, daß die Nährpflanze in ihrer Entwicklung unverändert bleibt, insbesondere durch die aufgenommenen

Substanzen nicht geschädigt wird, so läßt sich dieser Erfolg sicherlich mit vollem Recht als „Immunisierung“ bezeichnen. Schwierigkeiten in der Beurteilung der Immunisierungsfrage können aber für den Fall vorliegen, daß die Unterdrückung des Rostbefalls mit einer gleichzeitigen mehr oder weniger starken Schädigung der Versuchspflanze in Zusammenhang steht. Da die normale Fruktifikation der Rostpilze an das Vorhandensein lebender, voll funktionsfähiger Zellen der Wirtspflanze gebunden ist, kann eine Herabsetzung der Pustelbildung nicht überraschen, wenn die Pflanze oder ihre Teile durch irgendwelche Eingriffe geschädigt werden. In einem solchen Fall noch von Immunisierung zu sprechen, erscheint doch wohl nicht angängig, genau so wie wir schädigende Eingriffe anderer Art, welche mit der Störung oder Unterbindung der normalen Blattfunktionen auch die Entwicklung der auf den Blättern befindlichen Parasiten in Mitleidenschaft ziehen, unmöglich allgemein als Immunisierung ansprechen können.

Wie Tabelle 1 und die als Anmerkungen zu Tabelle 1 gebrachten Versuchsbeobachtungen zeigen, treten nun aber in einer großen Zahl von Fällen, in denen eine rosthemmende Wirkung der gereichten Präparate festgestellt wurde, gleichzeitig Schädigungserscheinungen an den Versuchspflanzen auf. So liegen bei dem Präparat 167 selbst bei der geringsten Gabe von 12 mg je Kilogramm Boden = 100 qcm Bodenfläche noch gewisse Spitzenschädigungen und chlorotische Verfärbungen der Blätter vor. Schädigungen oder Wachstumshemmungen bei gleichzeitiger Verschlechterung des Rostbildes wurden auch bei den Präparaten 2, 9, 23, 25, 28, 35, 44, 47, 161, 162, 163 und 166 beobachtet.

Andererseits kann von einem ausreichenden Parallelismus zwischen Schädigung der Nährpflanzen und Rostunterdrückung durchaus nicht immer die Rede sein. So haben wir in den schädigenden Präparaten 23, 25, 28 und 44 solche, die den Rostbefall nur schwach beeinflussen. Die Präparate 171 und 172 sind sogar besonders schädlich, ohne daß sie einen stärkeren Einfluß auf den Rostbefall ausüben.

Wir können also die Verhältnisse bei den einzelnen Präparaten offensichtlich nicht als gleichwertig ansprechen, sondern müssen von Fall zu Fall entscheiden. Beziehungen zwischen Schädigungswirkung und Rostunterdrückung können sicherlich vorliegen und eine Immunisierung vortäuschen oder verschleiern; daneben aber zeigen alle diejenigen Fälle, in denen es zu einer guten Rostunterdrückung kommt, ohne daß die Entwicklung der Pflanzen in Mitleidenschaft gezogen wird, daß wir einen Teil der gemachten Beobachtungen nicht auf Schädigungswirkungen zurückführen können, sondern als Immunisierung deuten müssen. Es gilt das vor allem für die Pikrinsäure, die den Rostbefall unterdrückt, ohne daß sich ausgesprochene Schädigungen bei den Versuchspflanzen bemerkbar machen (siehe auch die späteren Versuche von Tabelle 4).

In welcher Weise sich die Immunisierung durch Stoffe vom Typus der Pikrinsäure im einzelnen vollzieht, läßt sich bis jetzt nicht entscheiden. Wichtig für die Beurteilung dieser Frage erscheint die Feststellung, daß es sich bei der Unterdrückung des Rostbefalls durch chemische Stoffe nicht um eine Verschiebung des Infektionstypus nach der resistenten Seite, sondern nur um die Unterdrückung des normalen Pustelausbruchs handelt. Auch die unter der Einwirkung von Pikrinsäure zuweilen auftretenden chlorotischen Verfärbungen, die den Typus 0 vortäuschen, sind anders zu bewerten, da starke Pikrinsäuregaben diese Verfärbungen auch unabhängig von einer Rostinfektion bewirken können. Das Fehlen aller gleitenden Veränderungen des Infektionstypus spricht dafür, daß es sich bei der Immunisierung auf chemischem Wege nicht um eine einfache oder quantitative Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge handelt. Vielmehr scheint, wenn wir von den hier nicht nochmals zu besprechenden Folgen gleichzeitiger Schädigungswirkungen absehen, die Unterdrückung der Pustelbildung dadurch zustande zu kommen, daß die geringen von den Wurzeln aufgenommenen Mengen wirksamer Substanz entweder in die Wechselbeziehungen von Pilz und Nährpflanze störend eingreifen oder aber für den eindringenden oder eingedrungenen Rostpilz in ganz spezifischer Weise giftig sind.

Im Anschluß an die in Tabelle 1 zusammengestellten Versuchsreihen haben wir nachträglich noch mit mehreren Präparaten einige Versuche mit abweichender Versuchsmethodik durchgeführt. Wir wollen diese Versuche hier etwas ausführlicher wiedergeben, weil die in ihnen gemachten Beobachtungen in verschiedener Hinsicht eine Ergänzung zu den vorstehenden Betrachtungen abgeben.

Während in allen bisher besprochenen Versuchen die Anwendung der Präparate durch Ausstreuen auf die Bodenoberfläche der Versuchstöpfe erfolgte, ist im folgenden ein unmittelbarer Zusatz zum Boden gewählt. Mengen von 150 mg Substanz wurden mit 1200 g Boden vermischt. In den so vorbereiteten Boden wurden sieben Tage alte, also eben aufgegangene Pflänzchen eingesetzt

- a) in der Weise, daß die in kleinen Blumentöpfen angezogenen Pflänzchen mit Ballen in den großen, mit vorbereiteter Erde beschickten Topf überführt wurden,
- b) derart, daß die Pflänzchen direkt einpikiert wurden.

Die Impfung erfolgte vier Tage nach dem Umpflanzen. Versuchspflanzen: Strubes Dickkopf, Rost: *Puccinia triticina*, Rasse 53, Rostbild: Typus IV. Die Versuche brachten folgendes Ergebnis:

Präparat 9 (Acridin). Keine besonderen Unterschiede gegenüber den Kontrollen.

Bei a) Guter Wuchs, Versuchserde durchgewurzelt, normaler dichter Befall.

Bei b) Pflanzen etwas gehemmt, Versuchserde durchgewurzelt, Befall etwas lockerer als bei den Kontrollen.

Präparat 35 (1-Brom-2-Naphtol).

a) und b) übereinstimmend, Wuchs etwas besser als Kontrollpflanzen. Versuchserde gut durchgewurzelt, keine Unterschiede im Rostbefall.

Präparat 45 (Chloranil). Befund wie bei Präparat 35. Pustelbildung der Versuchspflanzen gegenüber Kontrollpflanzen etwas beschleunigt.

Präparat 50 (o-Chlorbenzoësäure).

Bei a) Pflanzen geschädigt, zweite Blätter stark gehemmt, zum Teil fast tot. Nicht aus dem Ballen gewurzelt. Rostbefall dicht, gegenüber Kontrollpflanzen etwas beschleunigt.

Bei b) Ausgesprochen wilde Pflanzen, erste Blätter schlapp, welkend; zweite Blätter eingerollt. Wurzelbildung und -wachstum schlecht. Sehr dichter Rostbefall. Pustelbildung gegenüber Kontrollpflanzen etwas beschleunigt.

Präparat 73 (Dimethylcumaronon).

Bei a) Starke Wuchshemmung, nicht weiter gewurzelt. Rostbefall stark, Pustelausbruch in Vergleich zu Kontrollpflanzen etwas beschleunigt.

Bei b) Sehr starke Wuchshemmung, zweite Blätter gestaucht, zum Teil tot. Kaum Wurzeln. Rostbefall stark, Pustelausbruch in Vergleich zu Kontrollen etwas beschleunigt.

Präparat 148 (Pikrinsäure).

Bei a) Versuchspflanzen im Wuchs besser als Kontrollen, Versuchserde durchgewurzelt. Von 15 Pflanzen haben 9 statt starken Befall mit Infektionstypus IV entweder nur vereinzelte Pusteln des Typus IV oder Typus 0, das heißt gelbgrüne chlorotische Marmorierung ohne Pustelbildung. Sechs Pflanzen haben leichten Befall mit Typus IV, also deutliche Hemmung der Pustelbildung bei gleichbleibendem Typus.

Bei b) Versuchspflanzen im Wuchs gleich oder etwas besser als Kontrollpflanzen; Bewurzelung etwas schlechter. Rostbefall bei sechs Pflanzen entweder nur noch einige wenige Pusteln oder Infektionstypus 0 statt Infektionstypus IV und starker Pustelbildung der Kontrollpflanzen. Bei sechs Pflanzen stark verringerte („aufgelockerte“) Pustelbildung.

Präparat 167 (p-Toluolsulfochloramidnatrium).

Bei a) Keine Wuchshemmung, aber Spizenzchlorose der meisten ersten und zum Teil auch der zweiten Blätter, keine Nekrosen. Wurzelbildung kaum über den Ballen hinausgegangen. Rostbefall: keine Pustelbildung; soweit Wirkung der Impfung erkennbar, nur Infektionstypus 0 (statt IV der Kontrollpflanzen), das heißt chlorotische Marmorierung der Infektionszone.

Bei b) Starke Wuchshemmungen der zweiten Blätter, die nicht länger sind als die ersten. Starke Spizenzchlorose der ersten Blätter; Wurzelbildung sehr schlecht. Beeinflussung des Rostverhaltens wie bei a).

In den vorstehenden Versuchen haben wir ganz verschiedene und wohl die wichtigsten Fälle der Beeinflussung des Rostbefalls durch chemische Stoffe bei Zugabe derselben zum Boden:

- I. Keine oder fast keine Beeinflussung von Wachstum und Rostbefall (Präparat 9, 35, 45).
- II. Starke Schädigungen bei unverändertem oder sogar gefördertem Rostbefall (Präparat 50, 73).
- III. Deutliche Schädigungen bei fast völlig unterdrücktem Rostbefall (Präparat 167).

#### IV. Keine Beeinflussung oder sogar eine Förderung der Entwicklung der Versuchspflanzen, dabei eine sehr deutliche Zurückdrängung des Rostbefalls (Präparat 148, Pikrinsäure).

Von diesen Fällen interessieren am meisten II und IV. Die Präparate 50 und 73 bewirken bei der gewählten Versuchsdurchführung starke Schädigungen der Versuchspflanzen ohne jede Herabsetzung des Rostbefalls, der zum Teil sogar gefördert scheint; wir dürfen also schädigende und rosthemmende Wirkung durchaus nicht identifizieren. Beide Wirkungen können unabhängig nebeneinander verlaufen, was natürlich garnichts darüber besagt, daß in anderen Fällen eine Schädigung den Rostbefall ursächlich verschlechtern kann.

Fall IV (Rostunterdrückung ohne gleichzeitige Schädigung der Nährpflanze) betrifft wieder die Pikrinsäure, für die wir bereits früher mit anderer Versuchsanstellung die gleiche Wirkung beobachtet hatten. Diese liegt also auch vor, wenn die Pikrinsäure dem Boden der Versuchstöpfe nicht aufgestreut, sondern beigemengt wird. Beachtenswert ist, daß die Wurzelentwicklung durch die in den vorstehenden Versuchen vorliegende innigere Berühring mit der Pikrinsäure durchaus nicht übermäßig beeinflußt wird.

Während die bei der Mehrzahl der Präparate in diesem Versuch zu beobachtende Einwirkung auf den Rostbefall grundsätzlich mit den Ergebnissen in Übereinstimmung steht, die beim Aufstreuen der Präparate auf die Bodenoberfläche erzielt wurden, muß es überraschen, daß Acridin und 1-Brom-2-Naphthol stark abweichende Resultate brachten. Diese Substanzen, die auf Grund der früheren Untersuchungen mit zu den wirksamsten gerechnet werden mußten, übten überhaupt keinen Einfluß auf den Rostbefall aus, wenn sie in der vorstehend beschriebenen Weise mit dem Anzuchtboden vermengt wurden. Da die beiden Stoffe nachweislich keine wirksamen flüchtigen Stoffe abscheiden, das Ausbleiben einer Wirkung also nicht wie bei Chloranil oder Dimethylcumaranon verständlich ist, vermögen wir im Augenblick für diese abweichende Feststellung keine Erklärung abzugeben.

Wir können die Frage, ob überhaupt eine Möglichkeit zur chemischen Immunisierung von Pflanzen gegen Rostpilze besteht, auf Grund der durchgeführten Untersuchungen bejahend beantworten. Die bisherigen Ergebnisse lassen uns die weitere Bearbeitung des angeschnittenen Fragenkomplexes dringend wünschenswert erscheinen, auch wenn es sich zunächst nur um Feststellungen mehr theoretischer Natur handelt und wenn wir von dem praktischen Ziel einer feldmäßigen Rostbekämpfung auf chemotherapeutischem Wege auch noch sehr weit entfernt sind. Wir halten es im übrigen aber gleichzeitig für unsere Pflicht, an dieser Stelle

vor einem unbegründeten oder doch zum mindesten vorzeitigen Optimismus zu warnen. Unsere Versuche haben, und das müssen wir erneut betonen, zunächst nur durchaus theoretischen und wissenschaftlichen Charakter. Ob und wie sich die gefundenen, bisher doch noch recht lückenhaften Erkenntnisse einmal zu praktischen Ergebnissen verdichten lassen, ist heute in keiner Weise vorauszusagen. Wir dürfen vor allem nicht übersehen, daß zwischen den von uns durchgeführten Gewächshausversuchen und den Versuchsbedingungen im Felde in wichtigen Punkten große Unterschiede bestehen: im ersten Fall ein reichliches Wurzelwachstum in einem beschränkten Bodenvolumen, bei Freilandpflanzen aber die bald in die Tiefe und darum in solche Bodenschichten gehende Wurzelentwicklung, denen wir chemische Stoffe praktisch nur sehr schwer oder gar nicht zuführen können. In Gewächshausversuchen die Möglichkeit, im Felde unter Umständen die Unwahrscheinlichkeit einer Aufnahme der gebotenen Stoffe. Die Schwierigkeiten müssen sich natürlich im ariden Klima und auf trockenen Böden, wo die Wurzelbildung besonders tief geht, extrem steigern. Andererseits muß zugegeben werden, daß unter gewissen Umständen, so vor allem im feuchten Frühjahr und bei jungen Pflanzen eine ausreichende Aufnahme immunisierender Stoffe, die z. B. gleichzeitig mit einer Kopfdüngung gegeben werden, denkbar ist. Auf jeden Fall bedarf es noch sehr umfangreicher Prüfungen der verschiedensten Substanzen und unter den verschiedensten Klima- und Bodenverhältnissen, bevor wir uns ein richtiges Urteil über die Möglichkeit oder Unmöglichkeit einer Rostbekämpfung nach chemotherapeutischen Gesichtspunkten gestatten können.

## VII. Einige Versuche mit Sulfiden.

Die im folgenden noch kurz beschriebenen Versuche und Beobachtungen über die Wirkung von Sulfiden auf Getreiderostpilze stehen nur in lockerem Zusammenhang mit den vorstehend gebrachten Untersuchungen; der Berührungspunkt liegt in der Feststellung, daß es verschiedentlich gelang, bei allerdings ganz anderer Versuchsdurchführung, die Ausbildung von Rostlagern auf geimpften Blättern durch Anwendung von Sulfiden zu unterdrücken, ohne daß sich in verschiedenen Versuchsreihen äußerlich erkennbare Schäden an den Blättern bemerkbar machten.)

Vorweg sei bemerkt, daß die Sulfide sowohl Nährpflanzen wie Rostresistenz und Rostaufreten in unregelmäßiger und vielfach widersprüchsvoller Weise beeinflussen. Die schlechte Reproduzierbarkeit der Versuche weist auf Nebenwirkung derjenigen Versuchsfaktoren hin, die nicht genügend sicher in unserer Hand liegen. Mehrfach brachten trotz sonst peinlich genauer Versuchsdurchführung, insbesondere Verwendung derselben Präparate, die Wiederholungsversuche abweichende Ergebnisse.

Auch zeigte sich bald, daß die einzelnen Getreidesorten auf die gleiche Behandlung recht verschieden reagieren konnten.

In den ersten Versuchen wurden die in üblicher Weise herangezogenen Getreidepflanzen vor und nach der Impfung mit verschiedenen starken  $K_2S$ -,  $Na_2S$ - und  $NH_4HS$ -Lösungen begossen. Während die bis zur letalen Dosis zugefügten Sulfidlösungen auf den Befall einer anfälligen Weizensorte (Strubes Dickkopf + *Puccinia triticina*, Rasse 14) ohne Wirkung blieben, konnten wir bei einer mäßig resistenten Sorte (v. Rümkers Sommerdickkopf + *Puccinia triticina*, Rasse 14) eine deutliche Steigerung der Rostanfälligkeit beobachten, die sich in einer Abnahme der chlorotischen Verfärbungen, also in einer Erhöhung des Infektionstypus äußerte. Diese Beobachtung konnte nicht nur bei Zugabe von  $NH_4HS$ , sondern auch bei den anderen Sulfiden gemacht werden. Vielleicht handelt es sich dabei um eine Erscheinung, die dem von Hiltner und Merkenschlager (10) nach Behandlung mit Sulfiden festgestellten luxurierenden Wachstum, namentlich der oberirdischen Organe, an die Seite gestellt werden kann. Üppiges Wachstum und die von uns verzeichnete erhöhte Rostanfälligkeit lassen sich durch eine gleichsinnige Beeinflussung stoffwechselphysiologischer Vorgänge erklären.

Die soeben erwähnten Beobachtungen gaben uns dann noch Veranlassung zu einigen weiteren Versuchen mit abgeänderter Methodik. Um die Wirkung von Salzlösungen unmittelbar, d. h. unter Umgehung der Wurzelaufnahme und Ausschaltung etwa im Boden auftretender Veränderungen zu prüfen, hatten wir früher (Gaßner und Hassebrauk, 5) Getreidepflanzen in umgekehrter Stellung für eine oder mehrere Nächte in wässrige Lösungen der betreffenden Stoffe getaucht, so daß nur die Blätter mit den Lösungen in Berührung kamen. Nachdem die Blätter am Morgen abgespült waren, standen die Pflanzen während des Tages wieder frei im Gewächshaus.

Nach den ersten orientierenden Vorversuchen mit verschiedenen starken Lösungen der erwähnten drei Sulfide wurden alle weiteren Versuche mit Natriumsulfidlösungen von 0,025 % durchgeführt. Wir verwendeten Weizensorten verschiedener Anfälligkeit, die mit *Puccinia triticina*, Rasse 14, bzw. mit *Puccinia graminis*, Rasse 79, infiziert wurden; ferner die Hafer sorte Bri, beimpft mit *Puccinia coronifera*. Bezüglich des Infektionsverhaltens des verwendeten Kronenroststammes sei auf frühere Angaben verwiesen (Hassebrauk, 9):

Einmaliges Einhängen der Versuchspflanzen vor der Impfung beeinflußte das Rostbild in keiner Weise, auch wenn vereinzelt und regellos nekrotische Schädigungen als Folge der Behandlung auftraten. Wurde das Einhängen aber nach der Impfung, und zwar in Abständen von drei bis sechs Tagen nach der Impfung vorgenommen, so konnten wir im allgemeinen eine äußerst starke, häufig sogar vollständige Unterdrückung

Tabelle 4.  
Beeinflussung des Rostbefalls auf Getreidepflanzen durch 12 stündiges  
Einhängen der infizierten Blätter in 0,025 %ige Natriumsulfidlösung.  
Versuchseinzelheiten: Siehe Text.

Rostart und -rasse	Getreidesorte	Zeit zwischen Impfung und Behandlung Tage	Infektionstypus <sup>2)</sup> 11 Tage nach der Impfung auf den	
			un- behandelten Kontroll- pflanzen	in Na, S- Lösung getauchten Versuchs- pflanzen
<i>Puccinia triticina</i> Rasse 14	Mettes rostfreier Dickkopf . . .	3	IV	0;
	v. Rümkers früher Sommerdickkopf	3	III;	0 (;
	Carstens V . . . . .	3	IV	0;
	P. S. G. Hertha . . . . .	3	IV	0;
	Kraffts Dickkopf . . . . .	3	IV	0 (;
	Lembkes Obotriten . . . . .	3	IV	0;
	Heines Kolben . . . . .	3	IV	0 (;
	Salzmünder Standard . . . . .	3	IV	0 (;
	Blausamtiger Kolben . . . . .	3	IV	0;
	Svalöfs Panzer . . . . .	3	IV	0;
	Vogels Alb 77 . . . . .	3	IV	0;
	Holzapfels früher . . . . .	3	IV	0;
<i>Puccinia graminis</i> Rasse 79	Svalöfs Kronen . . . . .	3	IV	0;
	Mettes rostfreier Dickkopf . . .	3	III;	0;
	v. Rümkers früher Sommerdickkopf	3	III-IV	i-0;
	Carstens V . . . . .	3	IV	0 (;
	P. S. G. Hertha . . . . .	3	III;	0;
	Kraffts Dickkopf . . . . .	3	III-IV	i-0;
	Lembkes Obotriten . . . . .	3	III-IV	0;
	Salzmünder Standard . . . . .	3	III-IV	i-0;
	Svalöfs Panzer . . . . .	3	IV	i
	Vogels Alb 77 . . . . .	3	IV	i-0;
	Holzapfels früher . . . . .	3	IV	0.
	Svalöfs Kronen . . . . .	3	III-IV	i-0;
<i>Puccinia coronifera</i> Rasse Braun- schweig	Kubanka . . . . .	3	III-IV	I; (0)
		3		I; 0;
		3		0; (I);
		3		0; (I);
<i>Bri<sup>1)</sup></i>	Kota. . . . .	3	III;	I; (i-0)
		4		i-0 (I;)
		5		i-0 (I;)
		6		0-i (I;)

<sup>1)</sup> Herkunft Moskau.

<sup>2)</sup> Die Zusätze zu den Ziffern des Infektionstypus haben folgende Bedeutung:

= Nekrosen.

; = chlorotische Verfärbung.

0 (;) = Typus 0 mit sehr schwacher Chlorose.

0; = Typus 0 mit sehr starker Chlorose.

— — = Einzelpusteln.

des Rostbefalls beobachteten. Ein Teil dieser nach der eben angegebenen Methodik durchgeföhrten Versuche ist in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Die Unterschiede des Rostbefalls zwischen behandelten und unbehandelten Versuchspflanzen sind ganz eindeutig; statt der bei den Infektionstypen III und IV vorliegenden reichlichen Pustelbildung kommt es bei den für die Nachtstunden in Sulfidlösung getauchten Blättern im allgemeinen kaum noch zur Bildung von Uredolagern, sondern meist nur zur Ausbildung von Chlorosen. Diese Ergebnisse waren für uns vor allem deshalb so überraschend, weil wir in einigen früheren Versuchen (siehe oben) als Folge einer allerdings in anderer Weise durchgeföhrten Sulfidbehandlung keine Herabsetzung des Rostbefalls, sondern, soweit überhaupt eine Wirkung vorlag, eine Erhöhung der Anfälligkeit bzw. Verschiebung des Infektionstypus nach der anfälligen Seite gefunden hatten.

In den Versuchen der Tabelle 4 erfolgte die Rostunterdrückung meist ohne äußerlich sichtbare Schädigungen der Versuchspflanzen. Jedoch muß erwähnt werden, daß in einem Teil der Wiederholungsversuche — wir betonen: in einem Teil, in anderen nämlich nicht — als Folge der Behandlung nekrotische Schäden auftraten, wobei sich übrigens deutliche Sortenunterschiede zeigten. So erwiesen sich z. B. die Sorten Hussar und Spaldings prolific als sehr widerstandsfähig. Da in den Wiederholungsversuchen trotz gleicher Methodik und Verwendung des gleichen Präparates (sulfitfreies Natriumsulfid von Merck) immer wieder Verschiedenheiten der Schädigungsbilder auftraten, haben wir von der Fortsetzung und dem Ausbau dieser Versuche Abstand genommen. Dagegen wurden noch einige Versuche durchgeführt, in denen geimpfte Pflanzen mit  $\text{Na}_2\text{S}$ -Lösungen bespritzt wurden. Alle Versuche dieser Art verliefen negativ, obwohl Lösungen bis zu 1% zur Anwendung kamen. Die durch die Einhängeversuche festgestellte rosthemmende Wirkung des Natriumsulfids trat also in den Bespritzungsversuchen niemals zutage.

### VIII. Hauptergebnisse.

1. In Gewächshausversuchen wurden 174 verschiedene organische Verbindungen bekannter Konstitution daraufhin geprüft, ob sie bei Aufstreuen auf die Bodenoberfläche der Versuchstöpfe rosthemmende Wirkungen an Getreidekeimpflanzen ausüben. Bei einem Teil der Präparate konnten solche Wirkungen in mehr oder minder deutlicher Weise festgestellt werden; die Impfung der Getreidepflanzen mit Rost war dabei eine gewisse Zeit nach dem Aufbringen der Präparate vorgenommen.
2. Die Unterdrückung des Rostaufretens äußert sich nicht in einer Herabsetzung des Infektionstypus, sondern sofort in dem Ausbleiben der Pustelbildung, also in der Verringerung der Befallsstärke. Es waren Getreidesorten verwendet worden, die gegen-

über den zu den Versuchen herangezogenen Rostrassen den höchsten Infektionstypus IV zeigten.

3. Die Versuche sind mit *Puccinia triticina* zu Weizen und *Puccinia simplex* zu Gerste durchgeführt; die Wirkung der geprüften Präparate liegt bei beiden Rostarten in der gleichen Richtung, wenn sich auch gewisse Verschiedenheiten je nach Präparat und Rostart geltend machen können. Eine spezifische Wirkung der Präparate für verschiedene physiologische Rassen einer Rostart konnte nicht beobachtet werden.
4. Die rosthemmende Wirkung der auf die Bodenoberfläche aufgestreuten Präparate erklärt sich bei einigen Stoffen durch die gasförmige Ausscheidung flüchtiger toxischer Substanzen, welche die Sporenkeimung verhindern. Repräsentant dieser Gruppe von Präparaten ist das  $\alpha$ -Naphtol. Es bedarf weiterer Untersuchungen, ob es möglich ist, Präparate mit lang anhaltender Ausscheidung gasförmiger toxischer Stoffe in Form von Stäubemitteln zur Bekämpfung von Rostkrankheiten zu benutzen. Günstig ist, daß, zum mindesten bei bestimmten Präparaten, die ausgeschiedenen, für Pilzsporen giftigen Stoffe für die Gewebe der Wirtspflanze weitgehend harmlos sind.
5. Die rosthemmende Wirkung anderer Präparate erklärt sich nicht durch ausgeschiedene gasförmige Stoffe, sondern offensichtlich dadurch, daß die Wurzeln der Versuchspflanzen gewisse Mengen dieser Präparate aufnehmen, so daß es zu einer inneren chemotherapeutischen Wirkung der Substanzen kommt.

Ob wir innerhalb dieser Gruppe stets von einer eigentlichen Immunisierung auf chemischem Wege sprechen können, erscheint in denjenigen Fällen zweifelhaft, in denen eine gleichzeitige Schädigungswirkung der Präparate als Ursache der verschlechterten oder aufgehobenen Pustelbildung angesprochen werden kann. Andererseits gibt es Substanzen, welche den Rostbefall unterdrücken, ohne äußerlich sichtbare Schädigungsbilder auszulösen, so daß der Nachweis einer Immunisierung auf chemischem Wege als erbracht angesehen werden kann. Als Hauptvertreter dieser Gruppe von immunisierenden Stoffen kann die Pikrinsäure bezeichnet werden.

6. Einige ergänzende Versuche, in denen die chemischen Präparate nicht auf die Bodenoberfläche der Versuchstöpfe ausgestreut, sondern dem Boden selbst beigemengt waren, bestätigten die Möglichkeit einer Immunisierung auf chemischem Wege.
7. Eine Unterbindung des Rostbefalls gelang auch durch Anwendung von Sulfiden, wobei die Blätter der Versuchspflanzen in wässrige Lösungen dieser Stoffe eingehängt wurden. Die Versuchsergeb-

nisse sind jedoch nicht immer eindeutig und übereinstimmend, so daß besondere Schlüsse nicht gezogen werden können.

8. Alle in der vorstehenden Arbeit wiedergegebenen Versuche haben zunächst ausschließlich theoretischen Charakter. Die Frage, ob und unter welchen Voraussetzungen die gewonnenen Erkenntnisse der praktischen Rostbekämpfung nutzbar gemacht werden können, wird offen gelassen.

## IX. Schriftennachweis.

- 1 Behrens. Zeitschrift für Botanik, 1927, **19**, 305.
- 2 Fischer, E. und Gäumann, E. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929.
- 3 Gaßner, G. und Goede, G. Über die Wirkung einiger Pflanzenschutzmittel auf das Assimilationsverhalten von Blättern. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 1932, **50**, 517—528.
- 4 Gaßner, G. und Hassebrauk, K. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopathologische Zeitschrift, 1931, **3**, 535—617.
- 5 Gaßner, G. und Hassebrauk, K. Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. Phytopathologische Zeitschrift 1933, **5**, 323—342.
- 6 Gaßner, G. und Hassebrauk, K. Beiträge zur Kenntnis des Spargelrostes. Gartenbauwissenschaft 1934, **8**, 455—476.
- 7 Gaßner, G. und Straib, W. Beitrag zur Frage der Getreiderostbekämpfung auf chemischem Wege. Phytopathologische Zeitschrift 1930, **2**, 361—376.
- 8 Greaney, F. J. The prevention of cereal rusts by the use of fungicidal dusts. Dom. of Can. Dept. of Agr. Bull. 171, 1934 (New Ser.).
- 9 Hassebrauk, K. Gräserinfektionen mit Getreiderosten. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, 1932, **20**, 165—182.
- 10 Hiltner, E. (und Merkenschlager, F.). Über die Wirkung von Schwefelwasserstoff und von Sulfiden auf höhere Pflanzen, insbesondere die Kartoffel. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, 1931, **19**, 211—225.
- 11 Hülsenberg, H. Die Bekämpfung des Spargelrostes (*Puccinia asparagi* DC.) in der Provinz Sachsen. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und -schutz 1935, **45**, 97.
- 12 Menzel, Kl. Untersuchungen der schädigenden Wirkungen kupferhaltiger Spritzmittel. Angewandte Botanik, 1935, **17**, 225.
- 13 Müller, A. Die innere Therapie der Pflanzen. Berlin 1926.
- 14 Newton, R., Lehmann, J. V. and Clarke, A. E. Studies on the nature of rustresistance in wheat. Canad. Journ. of Res. 1929, **1**, 5.

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
der Universität Halle.

Leiter: Professor Dr. Th. Roemer.

---

## Gewinnung und Kultur der Haplonten von *Ustilago tritici*.

Von

Maria Lange — de la Camp.

Mit 16 Textabbildungen.

### I. Fragestellung.

Der Wert der Züchtung brandimmuner Getreidesorten schien in dem Augenblick in Frage gestellt zu sein, als bis dahin als immun angesprochene Sorten plötzlich Befall zeigten. Als Beispiel hierfür sei angeführt der Befall von „Grüne Dame“ mit *Ustilago tritici*, gefunden von Rudorf 1925 in Roßleben (10). Diese Erscheinung wurde erklärt durch das Auftreten sogenannter „neuer physiologischer Rassen“ und stellte uns vor die Aufgabe, uns vor diesem Neuaufreten zu schützen oder zu mindest dessen Möglichkeiten übersehen zu können.

Da nach unseren heutigen Anschauungen die Aggressivität eines Pilzes ebenso wie andere physiologische Merkmale genetisch bedingt ist, müssen wir zur Beurteilung der Frage, ob eine Getreidesorte überhaupt jemals befallen werden kann, imstande sein, den gesamten genetischen Bestand der Pilze an Pathogenitätsfaktoren und deren Wirkungen zu übersehen.

Da bei den Branden der praktisch wichtige Befall, das heißt der mit der Chlamydosporenbildung in der Ähre abschließende, stets durch ein dicaryotisches Myzel hervorgerufen wird, so wird der Infektionserfolg abhängig sein von der Anwesenheit eines oder mehrerer Allelenpaare von Aggressivitätsfaktoren, durch deren gemeinsame Wirkung die Erkrankung ermöglicht wird.

Bekanntlich sind die aus einer Chlamydosporenmischung entstehenden Myzelien keineswegs alle gleichmäßig pathogen befähigt. So ist es bei mehreren Brandarten bereits gelungen, durch fortgesetzte Vermehrung auf den gleichen Wirtssorten das gesamte Material aufzuteilen in Gruppen ± pathogen gleichartig befähigter Linienkombinationen. Wir stellen uns das Zustandekommen solcher Gruppen vor als beruhend auf einer Selektionswirkung seitens der Wirtspflanze (Piekenbrock [10], Grevel [5]

Roemer-Kamlah [15] betr. *Ustilago tritici*; Roemer [13], Roemer-Bartholly [14] betr. *Tilletia tritici*; Nicolaisen [9] betr. *Ustilago avenae*).

Da nun bei jeder Chlamydosporenkeimung Reduktionsteilung erfolgt und jeder entstandene haploide Kern, wie wir zunächst einmal annehmen wollen, mit irgend einem anderen, sofern er geschlechtlich verschieden ist, sich zu einem neuen dicaryotischen Myzel verbinden kann, müssen wir mit der Möglichkeit rechnen, daß auch solche Faktorenkombinationen entstehen werden, die im Infektionsmaterial bisher nicht aufgetreten waren und — entsprechend ihrer genetischen Zusammensetzung — andere pathogene Fähigkeiten besitzen, als sie uns aus dem Ausgangsmaterial bekannt waren. Damit haben wir das oben geschilderte Phänomen bereits erklären können ohne Zuhilfenahme irgendwelcher Mutationshypothesen.

Hiernach muß es möglich sein, durch Isolierung von Haplonten und deren willkürliche Kombination den Bestand an Aggressivitätsgenen bzw. deren Wirkungen im Paarkernmyzel allmählich kennen zu lernen, insbesondere auch hochaggressive Linienkombinationen herzustellen, mit denen wir unser Zuchtmaterial einer unbedingt sicheren Prüfung unterziehen können. Die Notwendigkeit dieser Prüfung für die praktische Pflanzenzüchtung ergibt sich zwangsläufig aus unseren Vorstellungen. Denn durch Anbau solcher Getreidesorten, die befallen werden bei künstlicher Infektion mit solchen hochaggressiven Linienkombinationen, die zunächst vielleicht nur in sehr geringem Umfang im Infektionsmaterial vorhanden sind, würden besonders günstige Bedingungen gerade für deren weitere Verbreitung geschaffen werden (16), wie dieses in dem oben angeführten Fall bereits beobachtet wurde.

Nachdem bereits Nicolaisen (9) in seinen Arbeiten mit *Ustilago avenae* dieselben Fragen erfolgreich in Angriff genommen hatte, wurden die Versuche mit *Ustilago tritici* begonnen. Über die ersten Schritte zur Lösung unserer Aufgaben soll hier berichtet werden. Über die Infektionsversuche soll dann erst geschrieben werden, wenn mehr positive Ergebnisse vorliegen, als dieses bis heute der Fall ist.

Bei allen unseren Überlegungen setzten wir die Konstanz der Aggressivitätsgene voraus. Es ist klar, daß unsere Arbeiten, in der gleichen Weise fortgesetzt, nicht zum Erfolg führen könnten, wenn ein Mutieren der uns interessierenden Gene häufig vorkäme und die entstandenen Mutanten in ihren aggressiven Fähigkeiten die bis dahin bekannten Linien übertreffen würden.

Wenn wir diese Möglichkeit auch stets im Auge behalten wollen, so versprechen wir uns vorläufig doch noch von unserer Arbeitsweise einen Erfolg, denn zunächst müßte ein häufiges Mutieren der Gene nachgewiesen werden, was frühestens geschehen kann, nachdem wir den vorhandenen Bestand an Aggressivitätsgenen gründlich analysiert haben werden.

## II. Material.

Aus den genannten Zielen ergibt sich die Auswahl des Materials für unsere Versuche.

Durch die Aufteilung in verschiedene Aggressivitätsgruppen, wie sie in langjährigen Arbeiten an der Pflanzenzuchtstation Halle besonders erfolgreich gerade bei *Ustilago tritici* durchgeführt wurde, ist bereits wesentliche Vorarbeit zur Lösung unserer Aufgaben geleistet worden. Als Ergebnis erhielten wir zunächst zwei pathogen deutlich verschiedene Gruppen auf unserem Testsortiment, bestehend aus: 1. Rimpau's Roter Schlanstedter, 2. Hohenheimer 25 f, 3. Peragis, 4. Halle 368/20 und 5. Grüne Dame, von denen die eine die ersten beiden Wirtssorten stark, die letzten drei kaum befällt, während die Gruppe II sich umgekehrt verhält (5). Heute unterscheiden wir in Deutschland noch zwei weitere Gruppen, von denen die eine (Gruppe III) das gesamte Testsortiment ziemlich stark, die letzte Gruppe (IV) sämtliche Testsorten nur schwach befällt. Doch haben die letzteren noch nicht einen so langjährigen Selektionsprozeß durchgemacht wie die ersten beiden Gruppen, deren große genetische Einheitlichkeit heute angenommen werden darf.

Um möglichst übersichtliche Voraussetzungen für unsere Versuche zu schaffen, schien es ratsam, mit Material von solcher Einheitlichkeit die Arbeiten anzufangen.

Experimentiert wurde bisher mit 12 verschiedenen Herkünften solcher Beschaffenheit, von denen 6 der Rassengruppe I, 5 der Rassengruppe II angehörten und 1 einer erst kürzlich vorgenommenen Mischung der Gruppen I und II entstammte (Tabelle I).

## III. Versuche.

a) Einleitende Bemerkungen. Der Weg der Untersuchungen ist durch die Fragestellung klar vorgezeichnet. Es mußte als erstes versucht werden, die Produkte der Reduktionsteilung vor ihrer Kopulation zu isolieren und zu kultivieren. Mit diesen Kulturen mußten Kopulationsversuche gemacht werden, um bei den künstlichen Infektionen nur geschlechtlich verschiedene Linien zu kombinieren.

Da die direkte Analyse der Aggressivitätsfaktoren schwierig und langwierig sein wird, sollte durch Beobachtung der Kulturen versucht werden, ob vielleicht andere, leichter zu ermittelnde Merkmale gefunden werden könnten, die möglicherweise mit der Aggressivität gekoppelt wären. Es ist besonders von amerikanischen Forschern versucht worden, Parallelen zwischen aggressiver Beschaffenheit und Wuchsform zu finden. Beim Weizenflugbrand versuchte es Rodenhisser (11, 12); er sät Sporenmaterial aus und konnte zeigen, daß sich die verschiedenen Herkünfte in ihrem Wuchstyp unterschieden. Bei Abimpfung blieb das Wuchsform unter gleichen Kulturbedingungen erhalten. So glaubte er, daß jeder Her-

Tabelle 1.  
Kälteschockwirkung auf verschiedene Flugbrandherkünfte.

Her- kunfts- Nr.	Ursprung	Wirtssorten der letzten Jahre						Rassen- gruppe	Tem- peratur °C	Bierwürze- Konzentration des Mediums		
		1928	1929	1930	1931	1932	1933			1,5 %	4,5 %	6 %
16	Finland . .	Hoh. 25f	Hoh. 25f	Hoh. 25f	Hoh. 25f	Hoh. 25f	Rr. Schl.	I	4	+	+++	+++
26	Rumänien . .	Rr. Schl.	Rr. Schl.	Rr. Schl.	Rr. Schl.	Hoh. 25f	Hoh. 25f	Rr. Schl.	I	2	+	+++
29	Rumänien . .									2	++	+++
37	Polen . . .									4	-	-
42	Cambridge . .									2	-	-
46	Cambridge . .									4	-	+
8	Halle . . .									2	+	+++
13	Halle . . .	Peragis	Peragis	Peragis	Peragis	Peragis	Peragis	II	4	+	+	++
101	Halle . . .									2	+	++
108	Halle . . .									4	+	++
128	Halle . . .									2	-	+
133	—									655/19	Peragis	Peragis

— Keine Einschnürung oder Septierung. + Schwache oder vereinzelte perlchnurartige Einschnürungen.  
++ Gute Einschnürungen. +++ Vollständige Septierung, schon bei leichter Berührung zerfallend.

kunft ein bestimmtes Wuchsbißt eigen wäre. Sollte diese Auffassung richtig sein, so wäre zu vermuten, daß sich die Haplonten einer Herkunft  $\pm$  ähnelten und sich von denen anderer Herkünfte in ihrem Wuchsbiß unterscheiden ließen, wie dies von Nicolaisen (9) beim Haferflugbrand tatsächlich gefunden wurde. Ebenso wäre es denkbar, daß irgendwelche physiologische Merkmale (Wuchsgeschwindigkeit, Temperaturrempfindlichkeit usw.) aggressiv gleichartig veranlagten Haplontengruppen gemeinsam wären. Auch nach einer Parallelität zwischen Geschlecht und morphologischen Merkmalen sollte gesucht werden.

b) Isolierung der Haplonten. Die Gewinnung von Haplonten bestimmter Brandpilze bietet im allgemeinen keine Schwierigkeiten; doch wurden in den bisherigen Arbeiten nur solche Pilzarten verwandt, die unter normalen Kulturbedingungen haploide Sporidien bilden, die mit Hilfe bekannter Apparaturen leicht isoliert werden können. Anders verhält sich in diesem Punkt *Ustilago tritici*. Kaum sind die vier haploiden Kerne im Promyzelschlauch verteilt, so erfolgt bereits paarweise Kopulation. Es bestand also die Aufgabe, die Kopulation zu verhindern und die haploiden Abschnitte des Promyzels zur Sporidienabschnürung zu veranlassen oder sie doch wenigstens so gegeneinander abzugrenzen, daß ihre Isolierung vor einer Kopulation möglich wurde.

Christensen (4) hat bereits vor einigen Jahren an unserem Institut versucht, haploide Kulturen von *Ustilago tritici* zu gewinnen. Er isolierte Sporen, ließ sie in Hängetropfen keimen und zerstörte einen Teil des Promyzels mit einer Glasnadel unter dem Mikroskop; den Stumpf ließ er weiterwachsen. Bei der Übertragung auf frische Nährböden bildeten sich nach Umschütteln des Impfstückes im Kondenswasser an vielen Stellen frische Mycelien, die untereinander morphologisch verschieden zu sein schienen und getrennt weiter kultiviert wurden. Durch mehrfache Wiederholung des Verfahrens kam der Verfasser zu immer größerer Einheitlichkeit des Wuchsbißt des Kulturen. So glaubte er, einen Weg zur Gewinnung haploider Kulturen gezeigt zu haben. Doch schien mir diese Methode nicht ganz zuverlässig genug zu sein, um als Grundlage für unsere Arbeiten dienen zu können; schon die Tatsache stimmt bedenklich, daß aus einer Spore allmählich bis zu sechs Typen gewonnen wurden, wenn auch diese Erscheinung allenfalls durch eingeschaltete Hyphenfusionen erklärt werden könnte.

Hüttig (6) hat nun in seinen Arbeiten gezeigt, daß der Keimungsmodus aller von ihm geprüften Brandarten weitgehend durch die Temperatur beeinflußt wird. Auf Grund seiner Ergebnisse mußte es gelingen, beim Weizenflugbrand durch Einwirkung einer Temperatur von  $10^{\circ}$  einen Keimungsmodus ähnlich dem des Haferflugbrandes zu erzielen. Ich versuchte dies zunächst mit einer Sporenprobe in hängenden Tropfen auf verschiedenen Nährböden und -lösungen. Das Keimungsbild entsprach

durchaus dem von Hüttig gegebenen, doch gelang die Isolierung der scheinbar sporidienartig abgeschnürten Seitensprosse nicht, da diese auswuchsen, ohne vorher vollständig von dem Promyzelschlauch getrennt gewesen zu sein. Auch bei weiterer Temperaturerniedrigung gelang eine Sporidienablösung in der gewünschten Weise nicht.

Nach diesem Mißerfolg versuchte ich, durch plötzliche Kälteeinwirkung auf die schon gebildeten Keimschlüche eine Abgrenzung der einzelnen haploiden Abschnitte gegeneinander zu erzwingen, um diese dann möglichst voneinander losreißen zu können. Dies gelang. Nach

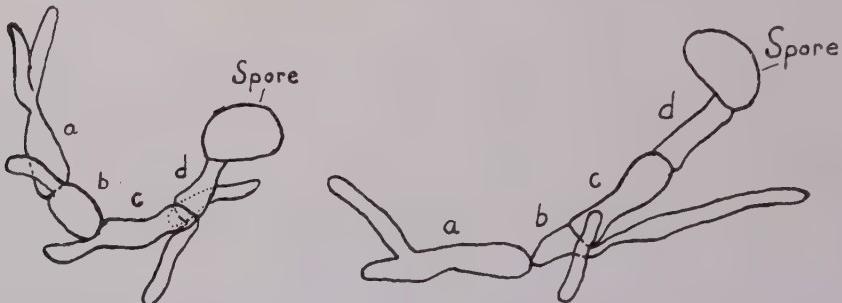


Abb. 1.

Kälteschockwirkung auf die Promyzellen vor der Kopulation.

Man erkennt die Abschnürungen der vier Promyzelabschnitte gegeneinander.

wenigen Versuchen konnten die günstigsten Bedingungen zur Erreichung des Ziels bei einer Reihe von Herkünften ermittelt werden. Es hat sich nach meinen bisherigen Erfahrungen mit verschiedenen Temperaturen und Nährmedien folgende Methode als die geeignetste erwiesen:

Die Sporen werden unter Deckgläsern in hängenden Tropfen bei Zimmertemperatur zum Keimen gebracht. Als Keimungsmedium dient vorzugsweise drei-prozentige Bierwürze mit einem Agarzusatz von 15 g je Liter. Es wird weiter unten gezeigt werden, daß bei einigen Herkünften höhere Bierwürzekonzentrationen erforderlich sind. Da aber mit Steigerung der Ausgangs-Konzentration mehr Wasser aus der Umgebung aufgenommen wird, verflüssigt sich das Medium dann oft, was bei der nachfolgenden Isolierung lästig ist.

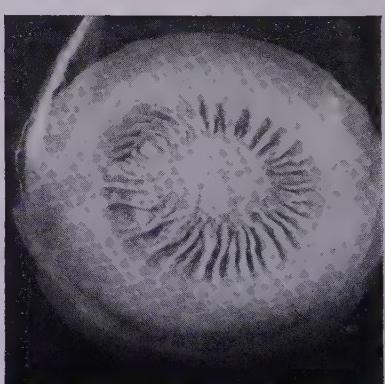
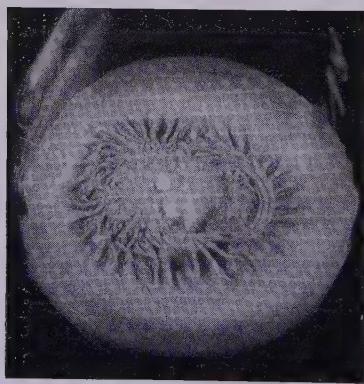
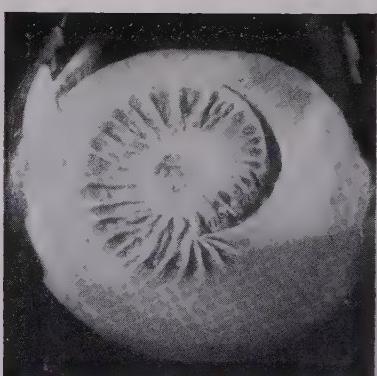
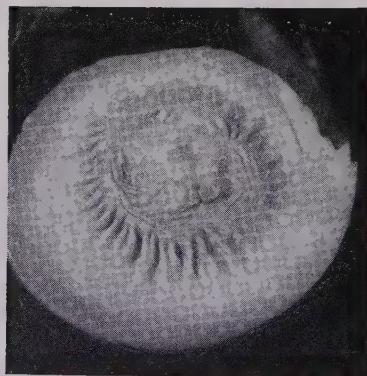
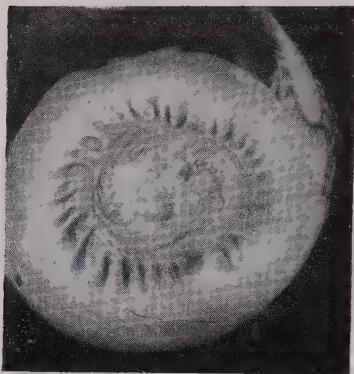
Nachdem sich die Keimschlüche gut entwickelt haben, aber noch vor Beginn der Kopulation, werden die Kulturen in Thermostaten mit einer Temperatur von 4° gebracht, wodurch meist schon nach einem Tag perl schnurartige Einkerbungen an den Promyzellen sichtbar werden. Nach drei bis vier Tagen sind oft schon alle drei Durchschnürungen zwischen den einzelnen Promyzelabschnitten so vollständig (Abb. 1, Vergr. 840 mal), daß durch leichtes Berühren mit der Nadel jeder Abschnitt einzeln abgenommen werden kann. Sind noch nicht alle drei Durchschnürungen genügend ausgebildet, so zerlege ich das Promyzel so weit

wie möglich und bringe die Kultur wieder zurück in die Kälte; am nächsten Tag sind dann meistens die fehlenden Durchschnürungen ausgebildet. So gelang es nach einiger Übung, von vielen Promyzelien alle vier haploiden Zellen zu isolieren.

128/1 a  
+128/1 c  
+128/1 b  
-128/1 d  
-Abb. 2.  
Wuchsbilder von vier Haplonten einer Spore.

Für das Gelingen der Versuche ist es wesentlich, die Kulturen genau im richtigen Augenblick in die Kälte zu bringen: in meinen Versuchen meist 24 Stunden nach dem Ansetzen der Kulturen. Das Abnehmen der Promyzelabschnitte geschieht unter dem Mikroskop mit einer fein ausgezogenen Glasnadel, die an einem für unsere Zwecke besonders geeigneten, von der Firma Warnicke, Halle, Mauerstr. 5, hergestellten Mikromanipulator befestigt ist.

Jede an der Nadel haftende Promyzelzelle wird nun in einen frischen Tropfen mit drei-prozentigem Bierwürze-Agar gebracht, worin das Auswachsen beobachtet werden kann. Sobald die Haplonten deutlich mit bloßem Auge sichtbar sind, werden sie in Reagenzgläser übertragen.



13/3 w

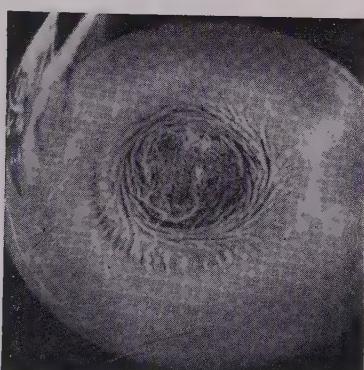
+

13/3 x

—

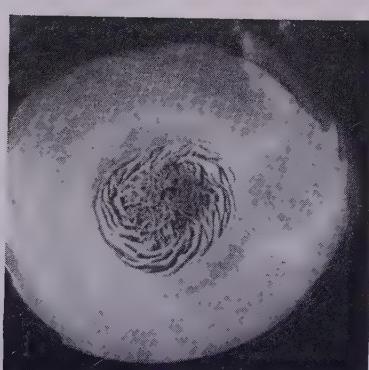
Abb. 3.

Wuchsbilder von vier Haplonten einer Spore, je in dreifacher Wiederholung,  
um die Einheitlichkeit der Wuchsbilder in den einzelnen Linien zu zeigen.



13/3 y

—



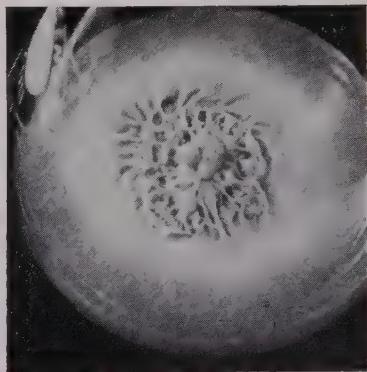
13/3 z

+

Es stellte sich nun bei den Versuchen mit dem verschiedenen Sporenmaterial heraus, daß die einzelnen Herkünfte recht verschieden auf den Kälteschock reagieren. Durch Variation von Temperatur und Nährbodenkonzentration sollte versucht werden, bei recht vielen Herkünften die Isolierung zu ermöglichen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle I zusammengestellt.



8/5 d

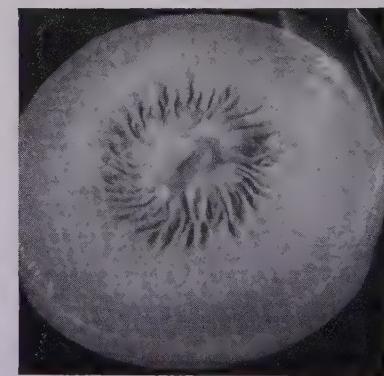


8/7 c



8/11 a

+



8/11 x

+

Abb. 4.  
Wuchsbilder von vier Haplonten verschiedener Sporen einer Herkunft;  
man erkennt die große Verschiedenheit der Wuchstypen innerhalb der Herkunft.

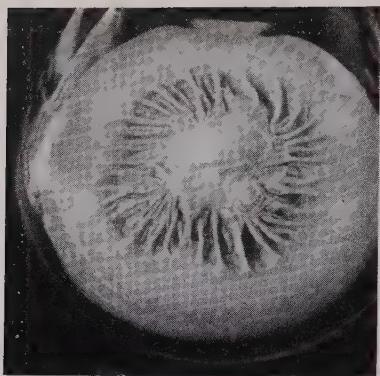
Überraschend ist einerseits die Einheitlichkeit der Reaktion innerhalb einer Herkunft mit Ausnahme von 133, andererseits die Verschiedenheit der Herkünfte untereinander. Die günstige Wirkung steigender Ausgangskonzentration der Nährböden geht aus der Zusammenstellung deutlich hervor. Weiter erkennen wir, daß dieses physiologische Merkmal völlig unabhängig von der Aggressivität auftritt. In beiden Rassengruppen finden wir Herkünfte mit starker und schwacher Durchschnürungsneigung.

Auffallend war noch die Reaktionsweise der Herkunft 133; ich fand in diesen meinen Kulturen Promyzelen mit starker und schwacher Durchschnürungsneigung durcheinander. Erst nach Beendigung der Beobachtung bemerkte ich, daß diese Herkunft, die, wie alle anderen, nur mit ihrer Nummer in den Protokollen verzeichnet gewesen war, aus einer zwei Jahre zurückliegenden Mischung aller möglichen Herkünfte hervorgegangen war.

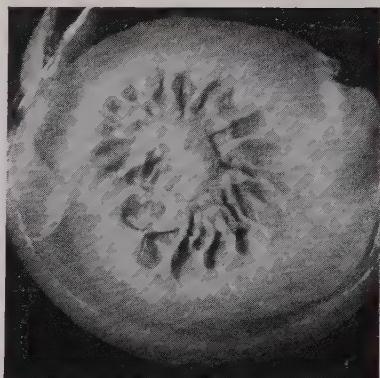
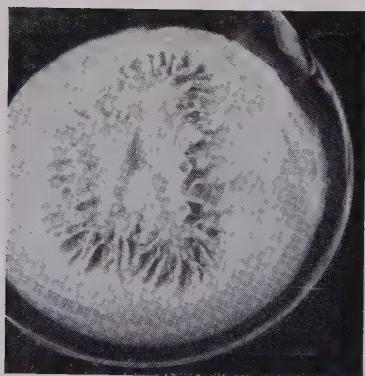
Im Winter 1934/35 konnten im ganzen 135 Haplonten isoliert und zur weiteren Entwicklung gebracht werden.

c) Kulturbeforschungen. Auch zur weiteren Kultivierung wurde zunächst derselbe Bierwürze-Agar wie zur Isolierung genommen. Da er aber, vermutlich infolge seines niedrigen pH-Wertes, nach mehrmaliger Sterilisation häufig nicht mehr fest wurde, wird er jetzt nur noch mit einer Pufferlösung nach Sörensen gemischt verwandt. Seitdem sind Verflüssigungen nicht mehr aufgetreten. Wir verdünnen ein Teil der käuflichen 18—19prozentigen Bierwürze mit 2 Teilen destilliertem Wasser, die Flüssigkeit wird zu gleichen Teilen mit dem Sörensen'schen Puffergemisch: Sieben Teile  $\frac{n}{15}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und drei Teile  $\frac{n}{15}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  zusammengebracht; wie oben nahmen wir 15 g Agar auf 1 Liter der Flüssigkeit. Da es uns hier nicht auf genaue pH-Werte ankommt, wird unbedenklich einfach destilliertes Wasser genommen. Die Pilze gedeihen auf diesem Nährboden sehr gut und können ohne Schwierigkeit in Reagenzgläsern und in Erlenmeyerkolben vermehrt werden.

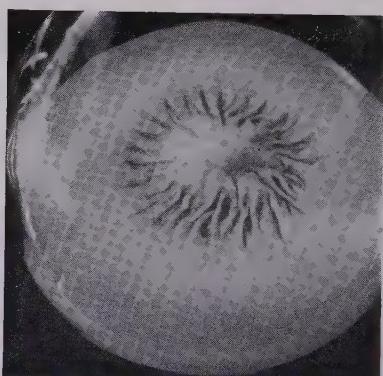
Typische Unterschiede in der Wuchsgeschwindigkeit der einzelnen Linien wurden nicht beobachtet. Hingegen war das Wuchsbild der Kulturen in Erlenmeyerkolben bei den einzelnen Linien sehr verschieden. Das soll an Hand einiger Abbildungen gezeigt werden. Abb. 2 zeigt vier Haplonten einer Spore, Abb. 3 vier Haplonten einer anderen Spore je in dreifacher Wiederholung, um die Einheitlichkeit des Wuchsbildes jedes Haplonten zu zeigen, der unter gleichen Bedingungen gewachsen ist. Abb. 4 zeigt vier Haplonten verschiedener Sporen einer Herkunft mit sehr verschiedenen Wuchstypen, Abb. 5 je einen Haplonten aus den sechs verschiedenen Herkünften, die untereinander große Ähnlichkeit zeigen. Die Kulturen werden folgendermaßen bezeichnet: die erste Zahl gibt die Herkunft der Sporenprobe an (vergl. Tabelle 1), die Zahl nach dem Strich eine bestimmte Spore dieser Herkunft und der Buchstabe einen Haplonten dieser Spore; dabei wurde mit a die Spitzen-Zelle, mit b die zweite, mit c die dritte, mit d die der Spore zunächst liegende Zelle des Promyzels bezeichnet. War die ursprüngliche Lage der Zelle im Promyzel durch das Hin- und Herbewegen während der Isolierung nicht mehr bestimmbar, so wurden die Haplonten mit x, y, z, w bezeichnet; weiter wurden griechische Buch-



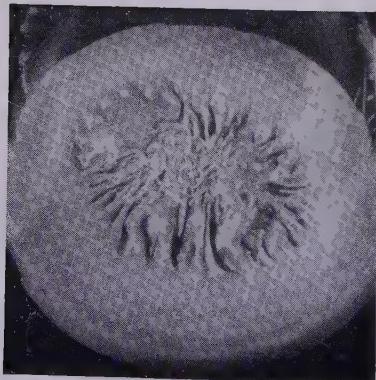
26/17 d.

128/3  $\alpha$ 

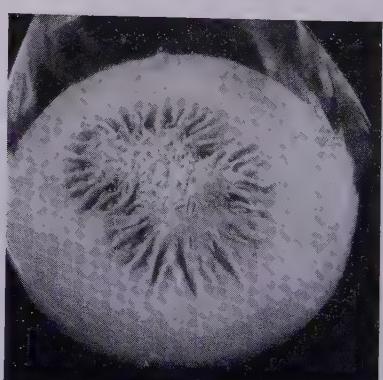
42/3 a.



8/11 x



16/10 d



13/9 c

Abb. 5.

Wuchsbilder von je einem Haplonten aus sechs verschiedenen Herkünften,  
die große Ähnlichkeit untereinander haben.

stabent eingeführt, wenn die Lage ziemlich sicher, Irrtümer aber nicht ausgeschlossen waren<sup>1)</sup>.

Schon aus diesen wenigen Beispielen geht klar hervor, daß von irgendwelcher Einheitlichkeit des Wuchstyps innerhalb einer Herkunft nicht die Rede sein kann, vielmehr sind die verschiedensten Wuchstypen innerhalb einer Herkunft realisiert, während andererseits ähnliche Typen in verschiedenen Herkünften zu finden sind (Abb. 5). Was hier nur in wenigen Abbildungen gezeigt werden kann, hat sich bei der Beobachtung der 130 Haplonten immer wieder gezeigt. Es ist wohl selbstverständlich, daß zur Beurteilung dieser Fragen nur wirklich vergleichbares Material herangezogen wurde, d. h. zum gleichen Zeitpunkt auf gleichen Nährböden geimpfte Kulturen, die nebeneinander auf den Börtern des Kulturräumes gestanden haben.

Hiermit ist bewiesen, daß eine Koppelung zwischen Wuchstyp und Pathogenität des Weizenflugbrandes nicht besteht; damit ist die Analyse von Wuchsbildern für unsere Fragestellung überflüssig geworden. Auch Becker (2) gibt in seiner kürzlich erschienenen Arbeit über *Tilletia tritici* Abbildungen zum Beweis dieser Tatsache. Dafür aber, daß andere Koppelungen zwischen einem physiologischen und einem morphologischen Merkmal vorkommen können, wird bei Besprechung der Sexualität ein Beispiel angeführt werden.

d) Sexualität. Viele Versuche, durch Kombination zweier Myzelien in verschiedenen Nährmedien entweder in hängenden Tropfen mikroskopisch Verschmelzungen oder auf Petrischalen makroskopisch irgendwelche Reaktionen zu beobachten, die auf Kopulationen deuten könnten, verliefen ergebnislos.

Da bisher Kopulationen haploider Stämme nur bei solchen Branden beobachtet worden waren, die in der Kultur unter normalen Bedingungen Sporidien bilden, versuchte ich, auch beim Weizenflugbrand Sporidien abzufangen. Ich versuchte dies schon im Sommer 1934 mit dem von C. Christensen gezüchteten Material. Obgleich er in diesen Kulturen anscheinend mühelos Sporidien erhielt, ist mir dies nicht gelungen, und auch später konnte ich bei den von mir selbst isolierten Haplonten niemals Sporidien finden. So versuchte ich, die Kulturen durch verschiedene Behandlungsweisen zu irgendwelchen Abschnürungen zu veranlassen. Das gelang bis zu einem gewissen Grade.

Beimpft man frischgegossene Petrischalen mit Myzelstückchen, so wachsen diese in den ersten Tagen mit kurzen, dicken Hyphen. Bringt man die Schalen dann — ungefähr 5 Tage nach der Beimpfung — in Thermostaten von 4° C, so schnüren sich die Hyphen oft perlchnurartig ein; ungefähr nach 8 bis 14 Tagen zerfallen sie meist schon durch leichtes

<sup>1)</sup> Die darunter stehenden Plus- und Minuszeichen bezeichnen das Geschlecht, wie es nach der unter d) beschriebenen Methode gefunden wurde.

Quetschen in ein- bis wenigzellige Abschnitte. Wie beim Promyzel kann auch hier die Wirkung durch erhöhte Nährbodenkonzentration und weitere Erniedrigung der Temperatur auf 2° C verbessert werden. Mit Suspensionen aus diesem Material wurden die ersten erfolgreichen Kopulationsversuche gemacht. Doch war auch hier die Beobachtung am frischen

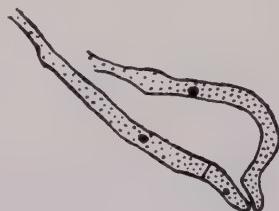


Abb. 6.

Zwei geschlechtsverschiedene Hyphen legen sich mit ihren Enden aneinander.

Vergr. 1560  $\times$ .



Abb. 7.

Abb. 7 und 8. Zwischen zwei geschlechtsverschiedenen Hyphen sind die Wände aufgelöst.

Vergr. 1560  $\times$ .

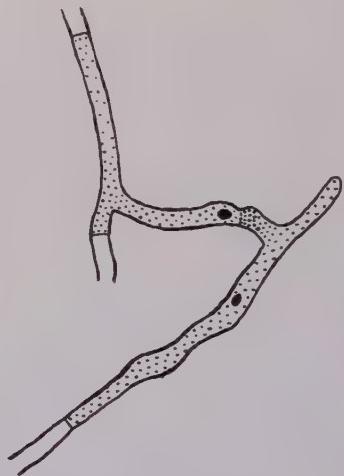


Abb. 8.

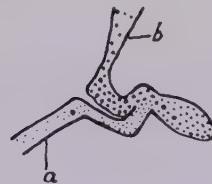


Abb. 9.

Die zwei geschlechtsverschiedenen Hyphen münden gemeinsam in einen plasmagefüllten Sack. Die von links kommende, mit a bezeichnete, mündet von oben, während sich das Plasma der von rechts kommenden, mit b bezeichneten Hyphe bei niedriger Einstellung bis in den Sack hinein verfolgen lässt.

Vergr. 1560  $\times$ .

Material ergebnislos, nur im fixierten gefärbten Präparat konnten die Kopulationen cytologisch nachgewiesen werden. Bei der Herstellung der Präparate folgte ich den Angaben von Hüttig (6): Fixierung mit Formalin-Pikrinessigsäure; nach gründlichem Auswaschen wurde zur Befestigung der Objekte die Äther-Celloidinmethode nach Kniep (8) angewandt; Färbung nach Heidenhain.

Die Fusionen zweier geschlechtsverschiedener Hyphen können im einzelnen recht verschieden aussehen, wie dieses aus den wenigen beigefügten Zeichnungen ersichtlich ist.

Abb. 6 (Vergrößerung 1560  $\times$ ) zeigt die erste Annäherung zweier geschlechtsverschiedener Hyphen mit der charakteristischen Abplattung

ihrer Enden gegeneinander. In Abb. 7 und 8 (Vergr. 1560  $\times$ ) anastomosieren die Plasmen beider Hyphen, die Kerne sind aber noch getrennt in den Ausgangshyphen erhalten. Abb. 9 (Vergr. 1560  $\times$ ) läßt das gemeinsame Einmünden zweier Hyphen in die angeschwollene Endzelle erkennen. In Abb. 10 und 11 (Vergr. 1560  $\times$ ) sind die Kerne schon übergetreten, man erkennt noch die Kopulationsbrücken.

Abb. 12 (Vergr. 840  $\times$ ) stellt einen Ausschnitt aus einem Präparat nach erfolgter Kopulation mit den zweikernigen, meist schlanken Suchhyphen dar, die in bekannter Weise lang aus dem Inneren herauswachsen,

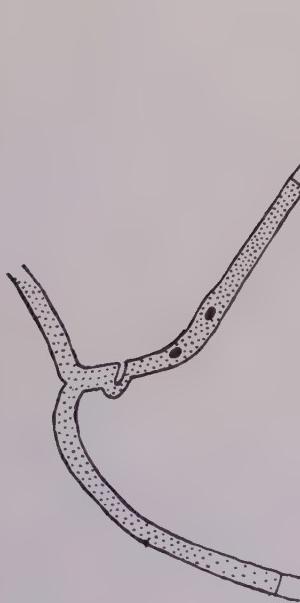


Abb. 10.

Kernübertritt ist bereits erfolgt. Man erkennt noch die Kopulationsbrücken.  
Vergr. 1560  $\times$ .



Abb. 11.

nur an der Spitze Plasma und das Kernpaar enthalten und sich gegen die leeren Hyphenenden abkammern.

Die weitere Entwicklung der zweikernigen Hyphen wurde bisher erst unzureichend untersucht. Lieselotte Bornhövd (3) schreibt in einer kürzlich erschienenen Arbeit über *Ustilago hypodites*, daß das Zweikernstadium instabil wäre. Sie glaubt, beobachtet zu haben, daß schon nach der ersten Teilung in der zweikernigen Zelle die Tochterkerne einzeln in neugebildete Zellen einwandern. Leider werden ihre Beobachtungen nicht durch Abbildungen belegt. Obgleich ich glaube, in meinen Präparaten Bilder gefunden zu haben, die auf konjugierte Teilungen und eine gewisse Stabilität des Zweikernstadiums unter den gegebenen Kultur-

bedingungen deuten (Abb. 13, 14, 15), muß eine Entscheidung dieser Frage weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Die hier wiedergegebenen Bilder wurden gefunden in Präparaten von Zellsuspensionen der Linien 128/1 a  $\times$  b und 128/1 b  $\times$  c, nicht aber in der Kombination 128/1 a  $\times$  c, ebensowenig in Präparaten aus reinen

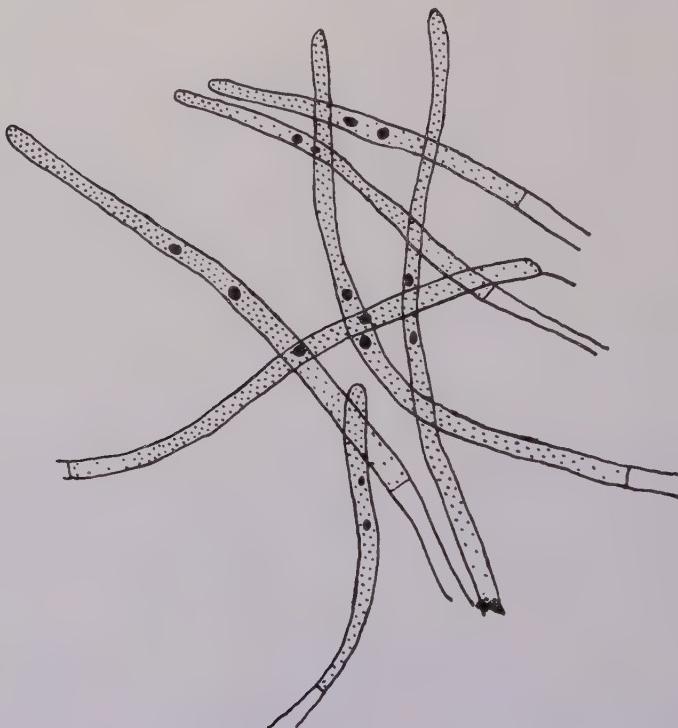


Abb. 12.  
Zweikernige Suchhyphen.  
Vergr. 840  $\times$ .

Haplonten. Hier sind, mit Ausnahme einiger weniger, gerade in Teilung befindlicher, alle Zellen einkernig. Somit war bewiesen, daß 128/1 a und 128/1 b verschiedengeschlechtig und 128/1 a und 128/1 c gleichgeschlechtig sind. 128/1 a wurde dann mit +, 128/1 b mit — bezeichnet.

Nachdem ich auf diese Weise das Geschlecht dieser Linien hatte bestimmen können, versuchte ich nun noch einmal, durch Kombination dieser geprüften Linien eine makroskopische Testmethode zu finden, und zwar mit vollem Erfolg. Setzt man zwei verschiedengeschlechtige Myzelstücke nebeneinander auf Kartoffeldextroseagar (400 g Kartoffeln werden in der Schale eine Stunde in Leitungswasser gekocht, das Filtrat wird auf 1 Liter aufgefüllt, 40 g Kandiszucker und 15 g Agar werden dazu gegeben), so tritt in der Berührungsline beider ein heller Streifen auf, der bei gleichgeschlechtigen Myzelien nicht erscheint.

Die Abb. 16 mag dies erläutern.

In jede Petrischale wurde zwischen zwei verschiedengeschlechtige Myzelien dasjenige gebracht, dessen Geschlecht festgestellt werden sollte. Die Streifenbildung lässt sich immer nur an der Berührungsline des ab-

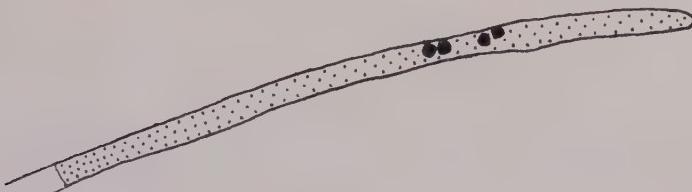


Abb. 13.



Abb. 14.

Konjugierte Teilungen, verschiedene Stadien.  
Vergr. 1560 X.

zutestenden Myzels mit je einem der verschiedengeschlechtigen Myzelien feststellen.

Während auf Bierwürze-Agar recht dicke, lederartig zähe Myzelmassen gebildet werden, überzieht der Pilz die Oberfläche von Kartoffeldextroseagar meist nur mit einer recht dünnen Haut. Diesem Umstand



Abb. 15.

Konjugierte Teilung, noch späteres Wachstum.  
Vergr. 840 X.

ist, wie ich glaube, das Sichtbarwerden der Kopulationsstreifen zuzuschreiben.

Mit Hilfe dieser sehr einfachen Methode werden jetzt alle Linien geprüft; es ergab sich bisher ausnahmslos eine einfache bipolare Sexualität bei *Ustilago tritici*. Die Verteilung des Geschlechts auf die vier Haplonten eines Promyzels erwies sich hierbei ganz unregelmäßig, wie dies auch nach den Versuchen Hüttigs zu erwarten war.

Auf eine interessante Erscheinung sei nun noch hingewiesen, die nach weiterer Prüfung vielleicht eine noch einfachere Geschlechtsbestimmung ermöglichen wird. Bei der Beobachtung neu isolierter Kulturen in Reagenzgläsern fiel mir auf, daß in allen den Fällen, in denen alle vier Haplonten vorhanden waren, je zwei einen dunkleren Farbton als die anderen beiden hatten. Ich bonitierte damals die jungen Kulturen daraufhin. Leider entdeckte ich die Farbaufspaltung erst bei den zuletzt gewonnenen Haplonten, die zwei verschiedenen Herkünften angehören.



Abb. 16.

Abtestung der Linien auf Kartoffeldextroseagar in Petrischalen.

In der Mitte jeder Schale je ein abzutestendes Myzel, rechts und links davon die Myzelien bekannter, verschiedener Geschlechts. In der linken Schale tritt der Kopulationsstreifen nach dem — Myzel hin auf, also ist das zu prüfende Myzel +; das Myzel in der rechten Schale verhält sich umgekehrt.

Da sich die Farbunterschiede später verwischen, konnten die älteren Kulturen nicht mehr nach diesem Merkmal bonitiert werden. Nun hat sich bei der Sexualitätsprüfung ergeben, daß eine deutliche Merkmalskoppelung zwischen dieser Jugendfärbung und dem Geschlecht besteht, und zwar übereinstimmend in beiden Herkünften, wie dies aus Tabelle 2 erkennbar ist.

Zum Beweis dafür, daß zwischen dieser Jugendfärbung bzw. der Sexualität und der Farbe älterer haploider Kulturen kein Zusammenhang besteht, sei die Abbildung der Tetrade 128/1 (Abb. 2) angeführt. Die Haplonten a, b und d sind hell, c ist schwarz. Ebenso kann die Tetrade 13/3 (Abb. 3) als Beispiel herangezogen werden, wo w, x, y hell, z sehr dunkel ist. Die Geschlechter sind unter den Abbildungen angegeben.

Es bleibt weiteren Untersuchungen überlassen, ob wir hier eine generelle Merkmalskoppelung oder nur eine zufällige, auf einzelne Herkünfte beschränkte, finden. Im ersten Fall hätten wir ein sekundäres, morphologisches Geschlechtsmerkmal gefunden, das ermöglicht, an der Farbe junger Kulturen das Geschlecht zu erkennen.

Sekundäre Geschlechtsmerkmale physiologischer Art wurden bereits von Kniep (7) bei *Ustilago violacea* bemerkt. Bauch (1) prüfte den Befund Knieps an umfangreicherem Material nach. Er stellte fest, daß auf Gelatine-Nährböden, auf denen sich die Myzelien eines Geschlechts gut entwickelten, die des anderen Geschlechts in ihrer Entwicklung gehemmt oder sogar völlig unterdrückt wurden. Umgekehrt gediehen letztere auf Nährböden, denen an Stelle der Gelatine Agar zugesetzt worden war, gut, während die ersteren hier gehemmt wurden. Bauch konnte durch die Untersuchung der Gelatine-Böden wahrscheinlich machen, daß diese entwicklungsphysiologischen Reaktionen durch Eiweißabbauprodukte verursacht werden, die aus der Gelatine stammen.

Tabelle 2.

**Jugendfärbung und Sexualität der Haplonten aus zwei verschiedenen Herkünften.**

Isolierung am 11./13. Februar 1935, Röhrenübertragung am 20. Februar 1935.

Beobachtung der Farbunterschiede am 1. März 1935.

Geschlechtsbestimmung im Winter 1935/36.

Kultur-Nummer	Färbung	Geschlecht	Kultur-Nummer	Färbung	Geschlecht
128/1a	hell	+	42/1a	dunkel	-
1b	dunkel	-	1b	dunkel	-
1c	hell	+	1c	hell	+
1d	dunkel	-	1d	hell	++
2a	ziemlich hell	+	2a	hell	++
2b	dunkel	-	2b	dunkel	-
2c	ziemlich hell	+	2c	hell	+
2d	dunkel	-	2d	dunkel	-
3α	ziemlich hell	+	3a	hell	++
3β	ziemlich dunkel <sup>1)</sup>	++	3d	ziemlich dunkel	?
3c	ziemlich dunkel	-	4a	hell	+
3d	dunkel	-	4b	dunkel	-
4a	dunkel	-	4c	dunkel	-
5a	dunkel	fehlt	4d	hell	+
5b	ziemlich hell	+	5a	dunkel	-
5c	ziemlich hell	+	5d	hell	+
5d	dunkel	-	6a	dunkel	-

Ich möchte in diesem Zusammenhang noch eine Beobachtung anführen, die, ohne beweisend zu sein, doch vielleicht eine Parallele zu Bauchs Versuchen darstellt. Eine Serie der aus isolierten Zellen der Herkunft 26 entstehenden Myzelien zerfiel in zwei morphologisch deutlich voneinander verschiedene Typen, von denen der eine den normalen Wuchstyp jung auswachsender, kurzzelliger Myzelien darstellte, die erst später längere Hyphen bilden, während der zweite, mit langen, dünnen „suchfadenartigen“ Hyphen mir bis dahin unbekannt geblieben war. Diese Haplonten gingen alle als wenigzellige Gebilde zugrunde, jene wuchsen in der Regel normal weiter. Abgesehen von den vier Haplonten der

<sup>1)</sup> Offensichtlich falsche Beobachtung.

Tabelle 3.  
Protokolle der Isolierungen aus der Herkunft 26.

Deckglas-Bezeichnung	Isoliert am	Beobachtung am				Nr.	Ge- schlecht
		12. Januar	14. Januar	19. Januar	21. Januar		
182/1 .	11. Januar	wächst			Suchfadenartige Gebilde, die nicht recht weiter- kommen	wie am 21. Januar	
182/1 .	11. Januar	—			wächst gut	gut	
182/1 .	11. Januar	wächst			wächst gut	gut	
182/1 . . .	11. Januar	wächst			Suchfadenartige Gebilde, die nicht recht weiter- kommen	wie am 21. Januar	
182/2 .	11. Januar	wächst			wächst	normal	26/4 x —
182 2 . . .	11. Januar	wächst mit langem, suchfadenartigem Gebilde			langes, suchfadenartiges Gebilde, nicht weiter- gekommen	nicht weiter- gekommen	
182/2 . . .	11. Januar	wächst			wäch-t normal	normal	
182/3 .	11. Januar	wächst			wächst	wächst	26/5 a —
182 4 .	11. Januar	wächst			wächst	wächst	26/6 a —
4 . . .	11. Januar	wächst			wächst	wächst	26 6 β +
4 . . .	11. Januar	wächst			wächst	wächst	26,6 c —
4 . . .	11. Januar	wächst			wächst	wächst	26/6 d +

182/5	11. Januar	wächst mit ziemlich langen Fäden	gewachsen	wächst	lange Fäden, nicht weitergekommen	wie am 21. Januar
182/6	12. Januar		gewachsen	normal	26/7 x	—
...						
183/1 :.	12. Januar			—	—	—
1 ::	12. Januar		gewachsen	einzelne suchfadenartige Zellen, nicht weitergekommen	wie am 21. Januar	—
183/2	12. Januar		gewachsen	— ?	—	—
2 ..	12. Januar		gewachsen	wächst	gut	26/8 x
193/1	18. Januar		gewachsen	such fadenartige Hyphen, nicht weitergekommen	?	?
1 ..	18. Januar		gewachsen	normal gewachsen	—	—
193/1	18. Januar		gewachsen	such fadenartige Hyphen, nicht weitergekommen	—	—
193/2	18. Januar		nicht gewachsen	ein langes, suchfadenartiges Gebilde	ein langes, suchfadenartiges Gebilde	—
193/3	19. Januar			—	—	—
3 ..	19. Januar		gewachsen	—	gewachsen	16/10 x
3	19. Januar		—	—	—	—
...						
3	19. Januar		—	—	—	—

Spore 182/4 bzw. 26/6, die sich alle normal entwickelten, gehörten höchstens je zwei Haplonten aus einer Spore dem einen oder anderen Wuchstyp an, wie aus der Tabelle 3 ersichtlich ist. Von den fünf hiervon erhalten gebliebenen Kulturen wurde bei vier später die Zugehörigkeit zum gleichen Geschlecht festgestellt, das Geschlecht von 26/8 x konnte noch nicht ermittelt werden.

Bei den folgenden Isolierungen aus ein und derselben Herkunft trat diese Aufspaltung nicht wieder auf. Da der zu Hängetropfen verwendete Agar in Reagenzgläsern verflüssigt und daraus mit glühenden Drahtösen entnommen wird, muß bei dieser Technik mit einer gewissen Inkonstanz des Mediums gerechnet werden; darum möchte ich die beschriebene Erscheinung auf zu häufiges Erhitzen des Agars zurückführen und als Parallel zu Bauchs Befunden deuten. Versuche zur Entscheidung dieser Frage sind beabsichtigt.

#### IV. Zusammenfassung.

Die bisherigen Beobachtungen bei den Kulturversuchen mit *Ustilago tritici* seien kurz zusammengefaßt:

Es ist mir gelungen, die Promyzellen von *Ustilago tritici* durch drei- bis viertägige Behandlung mit niedrigen Temperaturen (2 bis 4° C) in ihre vier haploiden Abschnitte zu zerlegen derart, daß diese unbeschädigt isoliert und zur weiteren Entwicklung gebracht werden können.

Die Reaktion auf die plötzliche Kälteeinwirkung erfolgt bei den verschiedenen Sporenherkünften verschieden stark und kann durch Erhöhung der Nährbodenkonzentration verbessert werden.

Innerhalb einer Gruppe von aggressiv annähernd gleichartig veranlagten haploiden Linien treten in künstlicher Kultur die verschiedensten Wuchstypen auf; eine Koppelung zwischen Wuchsform und pathogener Fähigkeit scheint nicht zu bestehen. Es wird zwar zugegeben, daß eine exakte Antwort erst dann erteilt werden darf, wenn die pathogenen Veranlagungen der einzelnen Linienkombinationen bekannt sind. Doch ist ein positives Ergebnis nach den bisherigen Untersuchungen sehr unwahrscheinlich.

Hyphenfusionen, Kopulationsbrücken und zweikernige Hyphen konnten an fixierten, gefärbten Präparaten von Suspensionen geschlechtsverschiedener Zellen beobachtet werden, während solche Figuren in Präparaten von Zellen, die nur einer haploiden oder zwei geschlechtsgleichen Linien angehören, nicht gefunden wurden.

Eine einfache Methode zur Bestimmung des Geschlechts der einzelnen Haplonten wurde gefunden. Es besteht nach den bisherigen Ergebnissen eine einfache bipolare Sexualität.

Ein morphologisches, sekundäres Geschlechtsmerkmal innerhalb zweier Herkünfte wurde beobachtet.

Durch diese Vorarbeiten sind die Grundlagen für die Infektionsversuche mit Myzel zweier geschlechtsverschiedener Haplonten geschaffen, über die erst später berichtet werden soll.

---

Die Arbeiten mit *Ustilago tritici* wurden im Sommer 1934 an der Pflanzenzuchtstation des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Halle begonnen. Besonderer Dank gebührt der Deutschen Forschungsgemeinschaft, durch deren Unterstützung die Beschaffung von mikroskopischen und technischen Hilfsmitteln ermöglicht wurde. Die Abbildungen der Pilzkulturen wurden im Photographischen Institut der Universität hergestellt. Herrn Professor Dr. Thiem, dem Leiter des Instituts, möchte ich auch an dieser Stelle für seine bereitwillige Hilfe und großen Bemühungen danken.

---

#### Schriftenverzeichnis.

- 1 Bauch, R. Biologisches Zentralblatt, 42, S. 9. 1922.
  - 2 Becker, Th. Phytopathologische Zeitschrift, 9, S. 187. 1936.
  - 3 Bornhövd, L. Phytopathologische Zeitschrift, 9, S. 69. 1936.
  - 4 Christensen, C. Der Züchter, 7, S. 37. 1935.
  - 5 Grevel, F. K. Phytopathologische Zeitschrift, 2, S. 209. 1930.
  - 6 Hüttig, W. Zeitschrift für Botanik, 24, S. 529. 1930.
  - 7 Kniep, H. Zeitschrift für Botanik, 11, S. 275. 1919.
  - 8 Kniep, H. Zeitschrift für Botanik, 13, S. 289. 1921.
  - 9 Nicolaisen, W. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, 19, S. 1. 1934.
  - 10 Piekenbrock, P. Kühnarchiv, 15, S. 411. 1927.
  - 11 Rodenhiser, H. A. Phytopathology, 16, S. 1001. 1926.
  - 12 Rodenhiser, H. A. Phytopathology, 18, S. 955. 1928.
  - 13 Roemer, Th. Kühnarchiv, 19, S. 1. 1928.
  - 14 Roemer, Th. und Bartholly, R. Phytopathologische Zeitschrift, 6, S. 469. 1933.
  - 15 Roemer, Th. und Kamlah, H. Phytopathologische Zeitschrift, 5, S. 41. 1932.
  - 16 Roemer, Th. Flora 28, Karsten-Festband, S. 145. 1933.
-



**Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik  
Braunschweig-Gliesmarode.**

(Arbeitsgemeinschaft Biologische Reichsanstalt — Botanisches Institut Braunschweig.)

**Untersuchungen zur Bestimmung der Ernteverluste  
des Weizens durch Gelb- und Schwarzrostbefall.**

Von

**G. Gaßner und W. Straib.**

Mit 4 Textabbildungen.

**Inhalt:** I. Vorbemerkungen und Grundzüge der Versuchsdurchführung. — 2. Versuche mit Gelbrost: A. Feldversuch 1930 in Schlanstedt. B. Feldversuch 1931 in Schlanstedt. C. Gefäßversuche 1933 in Gliesmarode. — 3. Versuche mit Schwarzrost (Feldversuch 1930 in Schlanstedt). — 4. Besprechung der Ergebnisse. — 5. Zusammenfassung. — 6. Schriftenverzeichnis.

**1. Vorbemerkungen und Grundzüge der Versuchsdurchführung.**

Den meisten Angaben über Ertragsverluste durch Rostbefall, besonders den älteren, sind Schätzungen zugrunde gelegt, wobei der Ertrag in Rostjahren mit demjenigen von Normaljahren verglichen wird (z. B. Eriksson und Henning, 7; Sorauer, 36; Stakman, 37; Appel, 1; Morstatt, 27; Bailey, 3; Dodoff, 6; Klemm, 24; Scott, 35; Pretorius, 32, u.a.). So gut solche Schätzungen die wirklichen Verluste treffen können, haftet ihnen als besonderer Mangel das Fehlen einer sicheren Vergleichsbasis an, da naturgemäß in den Erntezahlen nicht nur die Wirkung des Rostbefalles, sondern auch der maßgebliche Einfluß der allgemeinen Vegetationsbedingungen, zum Teil sicherlich auch das gleichzeitige Auftreten anderer Schädigungsursachen, wie Mehltau und Fußkrankheiten, mit erfaßt werden.

Es haben sich deshalb schon verschiedene Versuchsansteller die Aufgabe gestellt, diese Schätzungen durch experimentelle Untersuchungen nachzuprüfen und den Ursachen der Rostschäden auf den Grund zu gehen. Die dabei eingeschlagenen Versuchsmethoden können verschiedener Art sein.

Zu besseren Anhaltspunkten als die einfache Schätzung führen Versuche, wie sie von Goulden und Elders (14), Hayes, Aamodt und Stevenson (19), Immer und Stevenson (20) durchgeführt wurden. Diese Autoren vergleichen die Erträge von resistenten und anfälligen Getreidesorten und suchen dadurch einen Einblick in die tatsächliche Bedeutung der Rostschäden zu erlangen. Jedoch enthalten die gewonnenen

Zahlenwerte immer noch Schwankungen, die den Wert der aufgestellten Korrelationen nur bedingt erscheinen lassen.

In ähnlicher Richtung laufen Versuche, die Pesola (31) zur Ermittlung der Gelbrostschäden in Finnland durchgeführt hat. Er bestimmt die Erträge von anfälligen und resistenten Linien verschiedener Kreuzungen zwischen gelbrostanfälligen und -resistenten Weizensorten in der  $F_3$ - und  $F_4$ -Generation. Die Fehlerquellen, die diesem Vergleich anhaften, schaltet Pesola durch eine besondere Versuchsanstellung und -auswertung nach Möglichkeit aus.

Durch einen Vergleich des Ertrages einer resistenten und einer anfälligen Weizensorte, die ohne Gelbrostbefall fast gleichwertig sind, suchen auch Rudorf und Job (34) einen Einblick in die durch Gelrost in Argentinien neuerdings verursachten Schäden zu gewinnen. Die drei Jahre lang durchgeführten Versuche geben uns deshalb ziemlich zuverlässige Anhaltspunkte über die Höhe der Gelbrostschäden, weil infolge sehr schweren Gelrostbefalls derart große Ertragsdepressionen bewirkt wurden, daß dadurch die etwa bestehenden erblichen Ertragsunterschiede der geprüften Weizensorten vollständig zurücktreten müssen.

Von einer weiteren Möglichkeit zur Feststellung der Rostschäden im Felde hat neuerdings Rozinov (33) Gebrauch gemacht, indem er durch genauen Einzelvergleich des Ertrages einer sehr großen Zahl gesunder und rostiger Pflanzen eines Feldbestandes zu brauchbaren Anhaltspunkten über die Höhe der Rostschäden zu kommen sucht. Diese, wie der Verfasser selbst betont, auf „Massenarbeit“ eingestellte Versuchsanstellung dürfte wohl etwas umständlich sein. Sie hat auch noch den Nachteil, daß der Rostbefall je nach dem Ernährungs- und Entwicklungszustand der Pflanzen nicht unerheblichen Schwankungen unterworfen ist, und somit die Vergleichswerte ebenfalls nicht eindeutig ausfallen können. In kleinerem Maßstab ist diese Methode übrigens schon früher von Biffen (4), Armstrong (2), u. a. angewandt worden.

Am leichtesten ist es naturgemäß, in Gewächshausversuchen rostinfizierte und gesunde Vergleichspflanzen unter gleichwertigen Bedingungen heranzuziehen und so zu Schlüssen über die durch Rostbefall bedingten Schädigungen zu kommen. Andererseits läßt sich aber in solchen im Gewächshaus durchgeführten Versuchen infolge der gänzlich veränderten Entwicklungsbedingungen der Getreidepflanzen nur schwer entscheiden, inwieweit wir dadurch einen richtigen Einblick in die wirklichen, unter Feldverhältnissen vorliegenden Ertragsbedingungen erhalten. Vielfach liegen die im Gewächshaus festgestellten Ertragsdepressionen höher als diejenigen des Freilandes (vgl. Mains, 26; Johnston, 21; Johnston und Miller, 22; Murphy, 28; u. a.).

Wir werden also nach wie vor den Schwerpunkt auf die Ergebnisse von Feldversuchen legen müssen; aus diesem Grunde sind eine ganze

Zahl von Versuchsanstellern dazu übergegangen, den Ertrag der gleichen Sorten unter sonst gleichen Außenbedingungen und gleichzeitig in der Weise zu prüfen, daß rostige und rostfreie Parzellen unmittelbar in Vergleich gesetzt werden. Eine solche Versuchsdurchführung muß zu einwandfreien Ergebnissen führen, wenn man, mit Ausnahme des Rostbefalles, alle sonstigen Faktoren absolut gleich gestaltet. Die Schwierigkeiten der Versuchsdurchführung liegen darin, in Feldversuchen rostige und rostfreie Parzellen nebeneinander zu haben und die Infektion der rostfreien Parzellen in einwandfreier Weise zu verhindern.

In den Untersuchungen einer ganzen Reihe von Forschern (Kightlinger und Whetzel, 23; Goulden und Greaney, 15; Greaney, 16, 18; Mains, 26; Johnston, 21; Caldwell und Mitarbeiter, 5; Murphy, 28; Neill, 30) ist die mehr oder minder vollständige Rostfreiheit der als Vergleichsmaßstab dienenden Parzellen durch eine wiederholte und regelmäßige Behandlung mit Schwefelpräparaten (z. B. Koldust) erzielt. Greaney (17) hat dann noch besondere Berechnungsmethoden angegeben, nach denen der Verlust durch Rostbefall dabei zahlenmäßig ermittelt werden kann.

Ganz exakten Ansprüchen trägt die Benutzung von Schwefelparzellen als Ausgangspunkt der Berechnung von Rostschäden auch nicht Rechnung, weil die Schwefelbestäubung Nebenwirkungen haben kann, welche die Eindeutigkeit der Versuchsergebnisse beeinflussen dürften. Die Behandlung mit Schwefel unterdrückt einmal auch andere Parasiten, vor allem Mehlaupilze, die zum mindesten häufig, unter bestimmten klimatischen Verhältnissen wohl regelmäßig anzutreffen sind; anderseits können Schwefelbestäubungen, besonders bei starker Insolation, schädliche Nebenwirkungen haben. So konnten wir in einer großen Versuchsreihe in Schlanstedt sogar recht starke Verbrennungen der geschwefelten Parzellen feststellen, die sicherlich die Ertragshöhe beeinflußt haben. Immerhin soll zugegeben werden, daß bei schwerem Rostbefall diese Störungen an Bedeutung zurücktreten.

Zu den eben geäußerten allgemeinen Einwänden kommt noch bezüglich des Gelbrostes (*Puccinia glumarum*) das weitere Bedenken, daß Schwefelbestäubungen nur einen bedingten Schutz gegen Rost abgeben. Beobachtungen in dieser Richtung haben wir verschiedentlich machen können; erwähnt seien hier einige Versuche des zweiten Verfassers aus dem Jahre 1935, in denen nach dem weiter oben erwähnten Vorbild amerikanischer Autoren die Feststellung der durch Rost bedingten Ertragsdepressionen in der Weise versucht wurde, daß rostinfizierte und geschwefelte Parzellen in Vergleich gesetzt wurden. Dabei zeigte sich, daß auch eine wiederholte Bestäubung mit Schwefel das Gelrostauftreten nicht in genügendem Maße einzuschränken vermochte. Demnach vermag die Schwefelbehandlung einem Gelrostbefall nicht mit der gleichen

Sicherheit vorzubeugen, wie etwa dem Schwarzrost, mit dem die amerikanischen Autoren hauptsächlich gearbeitet haben. Das muß auch so sein, denn einmal fällt das Gelbrostaufreten weitgehend oder sogar hauptsächlich in die Zeit der ständigen Neubildung von zunächst naturgemäß ungeschützten Blatteilen, während Schwarzrost in der Hauptsache erst an älteren Pflanzen, die ihre äußere Entwicklung abgeschlossen haben, von Bedeutung wird. Außerdem aber behalten vereinzelte Schwarzrostinfektionen durchaus lokalen Charakter, während das starke Mycelwachstum des Gelrostes auch dann zu ausgedehnten Streifen- und Flächeninfektionen führen kann, wenn es sich nur um ein verhältnismäßig seltenes Eindringen von Keimschläuchen in die Blattfläche handelt. Denn eine Schutzwirkung des Schwefels gegen einmal eingedrungenes Rostmycel ist nicht vorhanden. (Gaßner und Straib 11.)

Wenn es sich also darum handelt, den durch Gelrostbefall verursachten Schaden unter feldmäßigen Bedingungen festzustellen, kommt die Methode der Behandlung der Kontrollparzellen mit Schwefelbestäubungen weniger in Betracht. Aber auch bei anderen Rostarten wird man aus Vorsichtsgründen gut tun, von einer Behandlung der rostfrei bleibenden Parzellen mit Fungiziden abzusehen, vor allem dann, wenn der Einfluß eines schwachen oder mäßig starken Rostbefalls auf die Ertragshöhe geprüft werden soll, und wenn die Möglichkeit besteht, daß Stäubemittel zu Verbrennungen oder anderen Störungen der behandelten Blattflächen führen.

Wir haben deshalb für die im folgenden zu besprechenden Versuche eine andere Versuchsdurchführung gewählt. Diese besteht darin, daß durch räumliche Trennung der Rostparzellen und Vergleichspflanzen eine Infektion der letzten vermieden wird, während die Rostparzellen gleichzeitig künstlich infiziert werden. Ein solches Versuchsverfahren hat einmal eine geeignete Anordnung der Versuchsparzellen unter Berücksichtigung der vorherrschenden Windrichtung, sowie einen entsprechenden Schutz der rostfrei bleibenden Parzellen gegen Sporenanflug zur Voraussetzung, wobei außerdem Rostjahre wegen der hier unvermeidlichen Infektion der Kontrollparzellen ausscheiden; vor allem aber müssen trotz der erforderlichen größeren Entfernung von Rost- und Vergleichsparzellen die Bodenverhältnisse in höchstem Maße gleichmäßig sein, um einwandfreie Schlüsse ziehen zu können, eine Forderung, die naturgemäß in den seltensten Fällen vollkommen erfüllt sein kann.

Durch das Entgegenkommen der Saatzuchtwirtschaft Strube in Schlanstedt wurden uns hier geeignete Schläge zur Verfügung gestellt, die unseren Anforderungen weitgehend entsprachen. Wir danken auch an dieser Stelle der Saatzuchtwirtschaft Strube für die Überlassung der Versuchsflächen, gleichzeitig aber auch der Notgemeinschaft der

Deutschen Wissenschaft (Deutsche Forschungsgemeinschaft) für die Bewilligung der zur Versuchsdurchführung erforderlichen Mittel. Ganz besonderen Dank schulden wir dem Saatzuchtdirektor der Firma Strube, Herrn Dr. Bonne, für die persönliche Betreuung der Versuche und seine wertvolle Unterstützung bei der Auswertung der Ergebnisse.

Einige weitere Versuche haben wir nach dem gleichen Versuchsprinzip auf unserem Versuchsfeld Gliesmarode durchgeführt. Da die Bodenverhältnisse hier nicht genügend gleichmäßig waren, mußten wir zu Gefäßversuchen greifen, wobei wir ebenfalls versuchten, durch räumliche Trennung der einzelnen Versuchsreihen und Aufstellung der Gefäße unter Schutz vor Sporenanflug zu brauchbaren Ergebnissen zu kommen.

Da der Gelbrost (*Puccinia glumarum*) für den deutschen Weizenbau die wichtigste Rostart darstellt, wirklich exakte Angaben über Ertragsdepressionen durch Gelbrost aber bis jetzt fehlen, haben wir in unseren Versuchen die Prüfung der Ertragsverluste durch diese Rostart in den Vordergrund gestellt. Daneben kam in Schlanstedt zu Vergleichszwecken noch ein übrigens recht wohl gelungener Versuch mit Schwarzrost (*Puccinia graminis*) zur Durchführung. Die in Gliesmarode eingeleiteten Versuche zur Bestimmung der Ertragsausfälle durch Braunrost (*Puccinia triticina*) führten experimentell nicht zum Ziel und mußten als ergebnislos aufgegeben werden.

## 2. Versuche mit Gelbrost.

### A. Feldversuch 1930 in Schlanstedt.

#### Auswahl der Versuchssorten.

Die Versuche wurden mit drei Sommerweizen durchgeführt, die sich gegenüber der zu den Impfungen verwendeten Gelbrostrasse 4 (früher als Stamm Schlanstedt I bezeichnet) deutlich verschieden verhalten. In Gewächshausversuchen traten auf diesen drei Sorten folgende Infektionsarten nach Impfung mit Rasse 4 auf (vgl. auch Gaßner und Straib, 10; 12; 13):

Weizensorte	Versuchstemperatur	
	15—18°	etwa 22°
Strubes Roter Schlanstedter . . . . .	IV	II
Peragis Sommerweizen . . . . .	IV	0
Heines Kolben . . . . .	0	00

Strubes Roter Schlanstedter wurde also als anfällige Sorte gewählt; Peragis Sommerweizen wurde einbezogen, weil es auf dieser Sorte nur bei nicht zu hohen Temperaturen zu Fruktifikationen der erwähnten Gelbrostrasse kommt, bei weiterem Steigen der Temperatur aber zur Nekrosebildung. Als hoch resistente Sorte, die auf die Impfung nur mit nekrotischen Verfärbungen reagiert, wurde Heines Kolben benutzt.

Anordnung der Versuchsparzellen und allgemeine  
Versuchsdurchführung.

Der Schutz der Weizenparzellen gegen unbeabsichtigte Rostinfektionen erfolgte in der Weise, daß die zur Bestimmung der Ertragsausfälle gewählten Weizensorten in einem großen Haferschlage (Strubes Gelb-

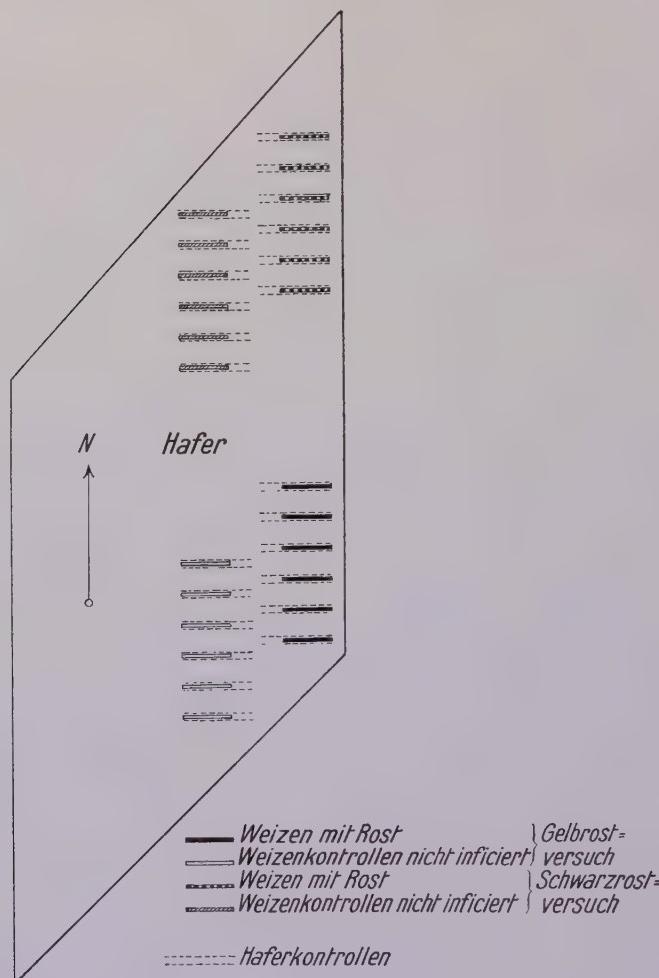


Abb. 1.  
Gesamtanordnung der Rostversuche Schlanstedt 1930.  
Maßstab 1 : 4000.

hafer) zur Aussaat kamen. Der fruchtbare Boden gestattete dem Hafer eine üppige Entwicklung mit relativ langem Halm, so daß die im Haferschlage befindlichen Weizenparzellen mit fortschreitender Vegetation nicht mehr gesehen wurden, also gegen den Anflug fremder Rostsporen in horizontaler Richtung ausgezeichnet geschützt waren. Im Hinblick auf die

vorwiegend westliche Windrichtung wurden die nicht zu infizierenden Kontrollparzellen in westlicher Richtung von den eigentlichen Rostparzellen gelegt. Der Abstand zwischen Kontroll- und infizierten Parzellen betrug zwar nur 28 Meter, erwies sich jedoch als ausreichend, zumal Kontrollparzellen und infizierte Stücke auf Luke gestellt waren, so daß sie sich nicht unmittelbar gegenüberlagen. Ein weiterer, aber wohl nicht sehr hoch zu bewertender Schutz bestand darin, daß der gewählte Haferschlag „Kuhburg“ nach den Hauptwindrichtungen Westen und Südwesten von Wegen mit Obstbaum- und Pappelbestand begrenzt war.

Die Gesamtanordnung der Weizenparzellen geht aus Abbildung 1 hervor, die auch den gleichzeitig durchgeföhrten, aber erst später zu besprechenden Schwarzrostversuch mit enthält.

Die Aussaat der Weizenparzellen erfolgte in sechsfacher Wiederholung; jede Sorte wurde in zwei Reihen von 20 cm Abstand ausgedrillt, so daß bei einer Parzellenbreite von 40 cm eine Parzellengröße von 10 qm entstand. Die drei zu prüfenden Weizensorten lagen jedesmal unmittelbar nebeneinander. Auf beiden Seiten des so entstehenden Sortenstreifens lag ohne Zwischenraum je eine Haferparzelle von 1,35 m Breite, die an einem Ende um 12 m über die Weizenparzellen hinausragte; die Größe der zur Kontrolle der Bodenverhältnisse benutzten Haferparzellen betrug also 50 qm. Anordnung und Größe der Teilstücke in jedem einzelnen Versuchsaggregat ist aus Abbildung 2 zu ersehen; der Abstand der einzelnen Sommerweizenparzellen voneinander betrug in nord-südlicher Richtung 14,85 m. Die gesamte sonstige Fläche des Schlages war gleichmäßig mit Hafer bestellt.

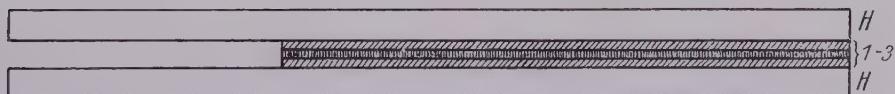


Abb. 2.  
Einzelversuch Schlanstedt 1930.  
1—3 = Weizensorten. H = Haferkontrollen.  
Maßstab 1:333.

Die Aussaatstärke je Parzelle betrug bei Strubes Rotem Schlanstedter 195 g, bei Peragis 160 g, bei Heines Kolben 145 g (gleiche Kornzahl je Flächeneinheit). Auf die Haferkontrollparzellen kamen je 420 g Saatgut.

Die Aussaat wurde für Hafer am 21. März und für die Weizensorten am 25. März 1930 vorgenommen. Das Auflaufen erfolgte je nach Sorte vom 8. bis 10. April, das Ährenschieben entsprechend vom 14. bis 18. Juni. Lager trat in dem im folgenden besprochenen Gelrostversuch nicht auf. Die Ernte wurde am 8. August, der Drusch am 28. August vorgenommen. Für die Beurteilung der Witterungsverhältnisse 1930 genügen die folgenden Angaben: Warmes günstiges Frühjahr; trockener Sommer mit hohen Lufttemperaturen; am Ende der Vegetationsperiode häufig Niederschläge mit Luftabkühlung. Niederschlagsmengen: März 22,7 mm; April 72,7 mm; Mai 91,2 mm; Juni 46,8 mm; Juli 61,6 mm; August 69,7 mm.

### Durchführung der Rostinfektionen und Rostbeobachtungen.

Die erste Impfung der Rostparzellen erfolgte am 2. Mai 1930 mit einer wässerigen Sporenaufschwemmung des verwendeten Gelbroststammes. Am gleichen Tage wurden außerdem zwischen die Drillreihen rostige Pflanzen von Strubes Dickkopfweizen, die im Gewächshaus mit dem gleichen Gelbroststamm geimpft waren, im Abstand von ca. 1 m einpikiert. Eine zweite Bespritzung mit einer Sporenaufschwemmung wurde am 13. Mai vorgenommen. Da am 19. Mai auf den anfälligen Sorten bereits Pustelausbrüche zu verzeichnen waren, brauchte zunächst nicht weiter geimpft zu werden. Als der Gelbrostbefall Ende Juni nachgelassen hatte, wurde am 30. Juni mit Sporenmaterial aus dem Zuchtgarten der Firma Strube nochmals eine Impfung vorgenommen, die jedoch scheinbar erfolglos blieb.

Wenn wir für die Bonitierung des durchschnittlichen Gelbrostbefalles sämtlicher Blätter eine achtteilige Skala zugrunde legen, wobei 0 keinen, 5 mittelstarken und 8 stärksten Befall bedeutet, so waren am 19. Mai Strubes Roter Schlanstedter wie auch Peragis in Stärke 2, also sehr schwach befallen, während Heines Kolben keinen Rost aufwies. Auf den beiden erwähnten Sorten nimmt von da ab der Gelbrostbefall täglich an Stärke zu und zeigt seinen Höhepunkt in der Zeit vom 30. Mai bis 12. Juni; am 30. Mai konnte auf beiden Sorten Befallstärke 6 bonitiert werden, während gleichzeitig auf Heines Kolben nur ganz vereinzelte Spuren von Gelbrostbefall vorlagen. Die trocken-warne Witterung der ersten Junihälfte war der weiteren Ausbreitung des Gelrostes jedoch hinderlich, so daß maximaler Befall wie im Jahre 1926 nicht zu verzeichnen war. Etwa von Mitte Juni ab ist ein deutliches Nachlassen der Pustelausbrüche auf den oberen, noch grünen Blättern von Rotem Schlanstedter und Peragis festzustellen. Durch den vom 24.—27. Juni einsetzenden Regen wurde das noch vorhandene Sporenmaterial abgewaschen; da neue Sporendurchbrüche nicht mehr erfolgten, die Pusteln vielmehr zum Vertrocknen kamen, waren von nun ab auf den beiden anfälligen Sorten nur noch nekrotische Flecken als Folge des früheren Befalls sichtbar. Erwähnt sei noch, daß Roter Schlanstedter und Peragis entgegen den Erwartungen (siehe oben) keine wesentlichen Unterschiede im Rostbefall zeigten. Dagegen blieb Heines Kolben, abgesehen von vereinzelten nekrotischen Flecken und ganz seltenen, kleinen Rostlagern praktisch gelrostfrei. Der Rostbefall im Felde entsprach also durchaus dem Vorliegen verschiedenartiger Infektionstypen in den weiter oben erwähnten Gewächshausversuchen.

Ein Übergreifen des Gelrostes auf die Kontrollparzellen konnte nicht ganz verhindert werden, jedoch war das Auftreten von Gelrost auch auf Rotem Schlanstedter und Peragis stark verspätet und erfolgte nur auf einzelnen Blättern und in einem so unbedeutenden Umfang, daß

Tabelle 1.  
Korn- und Stroherträge des Gelbrostversuchs mit Sommerweizen in Schlanstedt 1930.  
(Durchschnitt für 6 Parzellen.)

Weizensorte	Korntrag (kg) bei 14% Feuchtigkeit				Strohertrag (kg)		
	Kontroll-parzellen a	Gelbrost-parzellen b	Differenz b-a %	Z <sup>1)</sup>	Kontroll-parzellen a	Gelbrost-parzellen b	Differenz b-a %
Strubes Roter Schlanstedter	2,205 ± 0,06	1,905 ± 0,08	- 13,6	3,00	6,28 ± 0,10	5,31 ± 0,22	- 15,4
Peragis Sommer Weizen . . .	2,467 ± 0,12	2,202 ± 0,08	- 10,7	7,14 ± 0,45	6,36 ± 0,23	- 10,9	
Heines Kolben . . . . .	1,780 ± 0,07	1,705 ± 0,07	- 4,2	0,75	6,72 ± 0,27	6,97 ± 0,16	+ 3,7
Haferkontrolle . . . . .	14,4 ± 0,34	13,9 ± 0,08	- 3,5	1,43	vacat	vacat	vacat

<sup>1)</sup> Sicherheitskoeffizient =  $\frac{D}{mD}$

Tabelle 2.  
Kornbeschaffenheit im Gelbrostversuch 1930 zu Schlanstedt.

Weizensorte	Viertellitergewicht (g)				1000-Korngewicht (g)				Absiebungsprozent bei 2,5 mm			
	Kontroll-parzellen a	Gelbrost-parzellen b	Differenz b-a %	Z	Kontroll-parzellen a	Gelbrost-parzellen b	Differenz b-a %	Z	Kontroll-parzellen a	Gelbrost-parzellen b	Differenz b-a %	Z
Strubes Roter Schlanstedter	189 ± 0,8	187 ± 1,2	1,1	1,37	57,0 ± 0,2	55,4 ± 0,5	- 2,8	2,97	10,8 ± 0,3	12,0 ± 0,4	+ 11,1	2,40
Peragis . . . . .	190 ± 0,7	190 ± 0,6	0	0	58,9 ± 0,4	58,3 ± 0,3	- 1,0	1,20	9,4 ± 0,3	9,1 ± 0,3	- 3,2	0,71
Heines Kolben . . . . .	185 ± 1,1	185 ± 0,9	0	0	51,9 ± 0,8	51,0 ± 0,5	- 1,7	0,96	9,4 ± 0,2	10,1 ± 0,3	+ 7,4	1,91

der Ertrag hierdurch in keiner Weise beeinflußt werden konnte. In bezug auf die Gelbrostinfektion können wir also den Versuch als voll gelungenen bezeichnen.

Von anderen Rostarten trat spontan auf allen Versuchsstücken, jedoch nur in Spuren, Braunrost auf. Schwarzrost wurde nicht beobachtet, obwohl ca. 150 m nördlich die schwer infizierten Schwarzrostparzellen lagen.

#### Versuchsergebnisse.

Ermittelt wurden Körnertrag, Strohertrag, Viertelliterkorgewicht, Tausendkorgewicht, Absiebung bei 2,5 mm. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt.

Der durch Gelbrost verursachte Ausfall im Körnertrag beträgt demnach bei Strubes Rotem Schlanstedter Sommerweizen 13,6% und bei Peragis Sommerweizen 10,7%; bei Heines Kolben liegt eine Ertragsdifferenz von 4,2% vor, die jedoch innerhalb der Fehlergrenzen bleibt. Fehlerkritisch gesichert ist nur die Ertragsminderung bei Rotem Schlanstedter, jedoch sind wir wohl auch berechtigt, die Differenz von 11% bei Peragis nicht als ganz unbegründet anzusprechen.

Es muß auffallen, daß die Ertragsverluste dieser beiden Sorten etwas verschieden sind, obwohl der Gelrostbefall äußerlich gleich stark schien. Anderseits kann es auf Grund der Gewächshausbeobachtungen keinem Zweifel unterliegen, daß Peragis gegen Gelbrostrasse 4 nicht ganz so anfällig ist wie Roter Schlanstedter; vielleicht ist es nicht möglich, diese Differenz bei der feldmäßigen Bonitierung richtig zu erfassen.

Wie bei der Darlegung der Versuchsanordnung erwähnt, ist jeder Weizensortenversuch zur Kontrolle der Bodenverhältnisse von je zwei Haferparzellen eingefaßt; der durchschnittliche Körnertrag dieser Haferkontrollen betrug bei den Gelrostparzellen 13,9, bei den in südwestlicher Richtung liegenden, nicht infizierten Weizenparzellen 14,4 kg je Haferparzelle. Die Differenz von 3,5% liegt demnach innerhalb der Fehlergrenze. Legen wir trotzdem diese Werte der Beurteilung der Bodenverhältnisse zugrunde, würde die Ertragsdepression durch den Gelrostbefall etwas geringer zu bewerten sein, als aus Tabelle 1 hervorgeht. Ob ein solcher Schluß möglich ist, läßt sich jedoch nicht sicher entscheiden; bei den im gleichen Haferschlage angeordneten Schwarzrostversuchen betrug die Ernte der Haferkontrollparzellen 13,2 bzw. 13,3 kg je Parzelle (siehe Tabelle 6, S. 499). Der Haferertrag nimmt also, wenn wir die Anordnung der Versuchsparzellen berücksichtigen (siehe Abbildung 1) in süd-nördlicher Richtung ab. Anderseits zeigt Weizen in der gleichen Richtung eine Ertragszunahme; der sowohl in den Gelrost- wie in den Schwarzrostversuchen verwendete Rote Schlanstedter Sommerweizen brachte in den nicht infizierten Kontrollen in den südlich gelegenen Gelrostversuchen 2,205 kg, in den entsprechenden nördlichen Schwarzrost-

kontrollparzellen (siehe Tabelle 6, S. 499) aber 2,475 kg. Nach Mitteilung der Saatzuchtleitung der Firma Strube ist das gegensätzliche Verhalten von Hafer und Weizen auf Reaktionsänderungen des Bodens in süd-nördlicher Richtung zurückzuführen, auf die bekanntlich Hafer anders reagiert als Weizen. Wenn dies der Fall ist, lassen sich natürlich die Körnerträge der Haferparzellen nur stark bedingt für die Beurteilung der Bodenverhältnisse in den in Frage stehenden Weizenversuchen heranziehen.

Die vorstehenden Betrachtungen weisen auf die besonderen Schwierigkeiten hin, die sich einer zahlenmäßigen Feststellung nicht zu starker Rostschäden auf dem Wege des Feldversuches entgegenstellen. Immerhin kommen wir auch bei vorsichtigster Auswertung der Versuchsergebnisse insoweit zu einem positiven Ergebnis, als bei dem Roten Schlanstedter Sommerweizen eine Ertragsdepression von mehr als 10% als tatsächlich vorliegend angenommen werden muß. Damit ist bewiesen, daß ein durchaus nicht als sehr stark erscheinender und nur während eines Teiles der Vegetationsperiode anhaltender Gelbrostbefall den Körnertrag in deutlicher Weise herabzusetzen vermag.

Die Verluste im Strohertrag (Tabelle 1) gehen der Körnertragsminderung ungefähr parallel; die schwache Differenz bei Heines Kolben bleibt ganz innerhalb der Fehlergrenzen.

Auch im Viertellitergewicht wie im Tausendkorngewicht (Tabelle 2) ist bei Strubes Rotem Schlanstedter ein schwacher Rückgang festzustellen, ebenso wie auch die Absiebung deutlich höher ist. Bei den beiden anderen Sorten sind in dieser Hinsicht keine wesentlichen Unterschiede vorhanden.

### B. Feldversuch 1931 in Schlanstedt.

#### Auswahl der Versuchssorten.

Zur Verwendung kamen sieben Winterweizensorten, die gegen den wiederum benutzten Gelbroststamm Schlanstedt I (= Gelbrostrasse 4) im Gewächshausversuch das folgende Resistenzverhalten zeigen:

Weizensorte	Infektionstypus bei einer Versuchstemperatur von	
	15°	20°
Ackermanns Bayernkönig . . . . .	IV	IV
Pflugs Baltikum . . . . .	IV	IV
Strubes Dickkopf . . . . .	IV	III—IV
P. S. G. Hertha . . . . .	II—III	0
Strubes Neuzucht 3186 . . . . .	II—III	0
Carstens V . . . . .	0+	0
Kraffts Dickkopf . . . . .	0+	0

Die erstgenannten drei Sorten sind also anfällig, die beiden folgenden ziemlich resistent und die beiden letzten gegen die verwendete Gelbrostrasse hoch resistent.

### Anordnung der Versuchsparzellen und allgemeine Versuchsdurchführung.

Der Versuch wurde im Herbst 1930 nach ähnlichen Gesichtspunkten angelegt wie der weiter oben besprochene Versuch. Wiederum lagen die zu vergleichenden Weizenparzellen in einem großen Haferschlage; wiederum waren die nicht geimpften Kontrollparzellen durch entsprechende Anordnung und Entfernung von den infizierten Parzellen gegen unbeabsichtigte Gelbrostinfektionen geschützt. Ein Unterschied zu den früheren Versuchen bestand darin, daß die einzelnen Wiederholungen der Gelrost- und Kontrollparzellen nicht getrennt, sondern nebeneinander in einem Feldstück zur Aussaat gelangten. Die Gesamtanordnung des Versuches geht aus Abbildung 3 hervor. Zur Kontrolle der Bodenverhältnisse waren am Kopf- und Fußende der beiden Weizenflächen (infiziert und Kontrolle) wieder gleich große Haferparzellen vorgesehen; die in Tabelle 3 enthaltenen Zahlen zeigen gleiche Ertragshöhe der Haferparzellen.

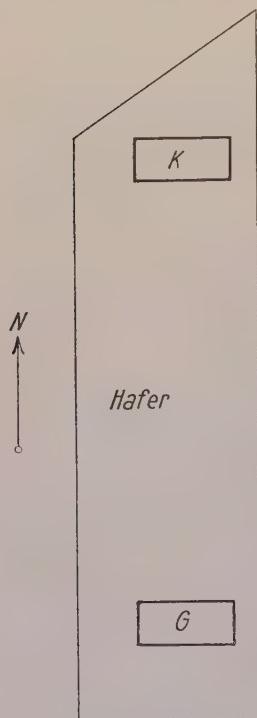


Abb. 3.

Lageplan der Weizenparzellen im Rostversuch Schlanstedt 1931.

G = Gelrostparzellen  
K = nicht infizierte Kontrollparzellen  
Maßstab 1 : 2000.

Baltikum, Strubes Dickkopf und Krafts Dickkopf) trat nach schweren Regenfällen Ende Juli Lager ein; jedoch lagen Unterschiede zwischen den zu vergleichenden Versuchsstücken in dieser Hinsicht nicht vor.

Die Witterung war bis Mitte November 1930 milde; dann setzten Fröste und Schneefall ein. Der Winter hielt mit nicht besonders niedrigen Temperaturen lange an. Das Frühjahr setzte erst Mitte April richtig ein. Mai und Juni waren sehr heiß und trocken, also der Entwicklung des Gelrostes auf den gewählten Weizensorten ungünstig. Der Juli war durch besonders hohe Niederschläge ausgezeichnet.

Die Weizenparzellen waren wieder je 10 qm groß und lagen in vierfacher Wiederholung direkt nebeneinander; diese Anordnung war in der Annahme gewählt, daß die Gelrostinfektion auf einer größeren geschlossenen Fläche sicherer gelänge als auf einzelnen Serien mit kleinen Flächen. Der Abstand der Gelrostparzellen von der Kontrollfläche betrug 111 m.

Die Aussaat der Weizenparzellen war am 15. Oktober 1930 erfolgt, die Aussaatstärke auf gleiche Kornzahl für die gleiche Flächeneinheit bemessen. Die Sorten liefen Ende Oktober bis Anfang November mit geringen Zeitunterschieden auf und kamen befriedigend durch den Winter. Dadurch, daß die Parzellen allein auf dem sonst noch unbestellten Schrage lagen, waren sie teilweise Beschädigungen durch Wildfraß ausgesetzt; einzelne auf diese Weise beschädigte Teilstücke mußten deshalb später bei der Bewertung ausgeschaltet werden. Die Entwicklung während des Frühjahrs und Sommers war jedoch gut; bei einem Teil der Sorten (Bayernkönig,

### Durchführung der Rostinfektionen und Rostbeobachtungen.

Die erste Gelbrostimpfung, die am 3. November 1930 durch Bespritzen mit einer wässerigen Sporenaufschwemmung vorgenommen war, blieb ergebnislos. Am 8. April 1931 wurden dann im Abstand von 1 m mit Gelbrostrasse 4 infizierte Dickkopfweizenpflanzen einpikiert, am 11. April nochmals im Abstand von  $\frac{1}{4}$  m. Diese Pflanzen wurden später bei der ersten Hacke (24. Mai) entfernt. Künstliche Infektionen mittels Sporenaufschwemmungen wurden noch am 23. und 29. April vorgenommen.

Die ersten vereinzelten Gelrostausbrüche wurden auf Bayernkönig, Baltikum und Strubes Dickkopf am 6. Mai beobachtet. Sie steigerten sich rasch und erreichten am 18. Mai im Mittel von vier Parzellen eine Stärke von 4 bei Bayernkönig und Strubes Dickkopf, von etwa 5 bei Baltikum. Bei den anderen Weizensorten traten Ende Mai—Anfang Juni nur ganz vereinzelte Gelrostinfektionen auf. Am 5. Juni war der Befall der erstgenannten Sorten als Folge der trocken-warmen Witterung bereits deutlich geringer; die noch grünen oberen Blätter zeigten bei Ackermanns Bayernkönig nur noch Grad 2, bei Baltikum etwa 3 und bei Strubes Dickkopf etwa 4.

Im großen ganzen wurde also auf den anfälligen Sorten leidlicher Gelrostbefall erzielt, allerdings bei weitem nicht in der Höhe wie z. B. 1926 und 1927 als Folge natürlicher Infektionen. Weiter ist zu berücksichtigen, daß der Befall nicht lange in voller Stärke anhielt. Immerhin muß der Versuch bezüglich der Gelrostinfektion als gelungen bezeichnet werden, weil die Kontrollparzellen frei von jeglichem Gelrostauftreten blieben.

Dagegen machte sich von Mitte Juli ab Braunrostbefall recht störend bemerkbar; er war bei den gelrostanfälligen Sorten im Hinblick darauf, daß hier große Blattflächen bereits von Gelrost beschlagnahmt waren, auf den Gelrostparzellen weniger stark als auf den Kontrollparzellen, während auf Strubes Neuzüchtung 3186 und Carstens V auf den kaum von Gelrost infizierten Parzellen etwas höhere Rostigkeitsgrade festgestellt wurden als auf den Kontrollparzellen der Nordseite. Der Befall war ziemlich erheblich (Roststärken bis zu Befallsstärke 5) und hat sicherlich die Versuchsergebnisse zu beeinflussen vermocht. Die in dem Versuche gewählte gemeinschaftliche Anordnung der gesamten Weizenparzellen stellt vielleicht doch eine gewisse Gefahrenquelle dar, wenn es einmal zu unbeabsichtigten Nebeninfektionen gekommen ist.

### Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengestellt.

Danach haben die begleitenden Haferkontrollparzellen praktisch gleiche Erträge gebracht; ebenso weist der hoch resistente Kraffts

Dickkopf zwischen „Gelbrost-“ und Kontrollparzellen nur einen ganz geringen Unterschied im Körnertrag auf.

Tabelle 3.  
Körnerträge im Winterweizenversuch mit Gelbrostinfektion  
zu Schlanstedt im Jahre 1931.  
(Mittel aus fünf Parzellen.)

Weizensorte	Kontroll- parzellen a	Gelbrost- parzellen b	Differenz b-a	Z
	kg	kg	%	
Ackermanns Bayernkönig . . . . .	2,23 ± 0,09	1,82 ± 0,04	— 18,4	4,16
Pflugs Baltikum . . . . .	2,76 ± 0,17	2,45 ± 0,13	— 11,2	1,48
Strubes Dickkopf . . . . .	2,14 ± 0,07	1,78 ± 0,08	— 16,8	3,39
P.S.G. Hertha . . . . .	2,68 ± 0,10	2,37 ± 0,04	— 11,6	2,87
Strubes Neuzucht 3186 . . . . .	2,62 ± 0,07	2,25 ± 0,06	— 14,1	4,02
Carstens Dickkopf V . . . . .	2,50 ± 0,04	2,29 ± 0,03	— 8,4	4,20
Kraffts Dickkopf . . . . .	2,30 ± 0,16	2,23 ± 0,07	— 3,0	0,41
Haferkontrolle . . . . .	660 kg / 1/4 ha	670 kg / 1/4 ha	+ 1,5 %	

Die anfälligen Weizensorten (Ackermanns Bayernkönig, Baltikum und Strubes Dickkopf) zeigen auf den Gelbrostparzellen ausnahmslos wesentliche Ertragsdepressionen auf, die allerdings fehlerkritisch nur zum Teil gesichert sind. Immerhin erscheint mit gewissen Vorbehalten der Schluß gerechtfertigt, daß auch ein weniger schwerer und nur kürzere Zeit anhaltender Gelrostbefall Körnertragsausfälle von über 10% bedingen kann.

Diese Vorbehalte sind zunächst schon deshalb notwendig, weil in den Versuchen in störendem Maße gleichzeitig Braunrost aufgetreten ist. Sie sind weiter notwendig, weil wir auch bei den Sorten P.S.G. Hertha, Strubes Neuzucht und Carstens V Ertragsdepression beobachten können, obwohl das Gelrostauftreten hier nur sehr schwach war. Worauf diese Ertragsminderungen beruhen, läßt sich nicht sicher entscheiden; wir müssen damit rechnen, daß die vorgenommenen starken Impfungen doch gewisse Wirkungen hatten, auch wenn es nicht zur Ausbildung von Rostlagern kam. Auch Blattnekrosen können nicht unbedeutliche Ertragsverluste bewirken (Straib, 38).

Das Verhalten der zuletzt erwähnten Sorten mahnt trotz der Möglichkeit einer Erklärung zur Vorsicht bei der Beurteilung der bei anfälligen Sorten festgestellten Ertragsdepressionen; trotzdem können wir das Ergebnis der Feldversuche des Jahres 1931 nicht anders als dahin ausdrücken, daß der mäßige und zeitlich beschränkte Gelrostbefall dieses Jahres Ertragsminderungen von mehr als 10%, bewirkt hat.

### C. Gefäßversuche 1933 in Gliesmarode.

#### Versuchsdurchführung.

Zu den Versuchen wurden für jede der beiden verwendeten Weizensorten in jeder Versuchsgruppe je drei kleine Zementtonnen von 0,1 cbm Fassungsvermögen verwendet, die mit gut gemischter Ackererde unseres Versuchsfeldes, einem sandigen Lehmboden, beschickt wurden. Jedes Gefäß erhielt eine Düngung von 10 g Natronsalpeter und 8 g Superphosphat. Die Versuchspflanzen waren unter den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen im Gewächshaus herangezogen und wurden beim Erscheinen des zweiten Blattes in die Versuchsgefäße eingekürtzt (je Versuchsgefäß 28 Pflänzchen).

Für die Versuche standen drei Gruppen zu je 3+3 (1933: 4+4) Versuchsgefäßen für die beiden verwendeten Weizensorten zur Verfügung. Die Gefäße fanden in drei durch 1,80 m hohe Wände ringsum geschlossenen Schilfkäfigen von  $7,5 \times 10$  m Fläche Aufstellung, die am Südwestrande des Versuchsfeldes in Abständen von je 45 m voneinander errichtet waren (Abbildung 4). Die Schilfwände hatten die Aufgabe, den Sporenflug nach Möglichkeit zu vermeiden; solche Schilfkäfige waren seiner Zeit auch für die Spargelrostversuche verwendet und sind an anderer Stelle abgebildet (Gaßner und Hassebrauk, 9).

Von diesen drei Schilfkäfigen sollte der mittlere Käfig B die nicht infizierten Kontrollpflanzen, der Nördkäfig A die mit Gelbrost und der Südkäfig C die mit Braunerrost infizierten Pflanzen erhalten, so daß also die Ertragsdepressionen durch Gelbrost mit denen durch Braunerrost in Vergleich gesetzt werden sollten.

Der erste Versuch dieser Art kam im Jahre 1932 zur Durchführung; er mißlang, weil sowohl die Gelbrost- wie die Braunerostinfektionen nicht genügend angingen und sich auch noch andere Störungen bemerkbar machten. Die Hauptursache für das Mißlingen lag einerseits in der trocken-warmen Witterung der Monate Mai und Juni, gleichzeitig aber sichtlich darin, daß sich diese Witterungseinflüsse in der stagnierenden Luft der Käfige besonders stark auswirken konnten. Um vor allem bezüglich der Luftfeuchtigkeit Abhilfe zu schaffen, wurde in den Versuchen des Jahres 1933 in die Fläche der Schilfkäfige Winterroggen eingesät, der bei der gewählten Frühjahrsaussaat niedrig blieb und durch reichliches Begießen dauernd feucht gehalten wurde.

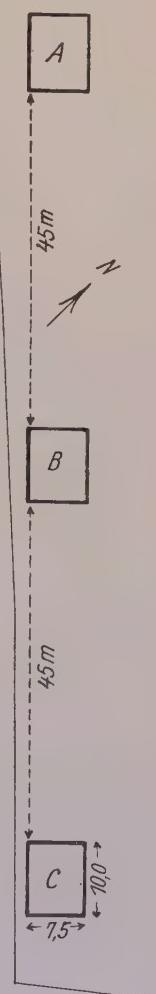


Abb. 4.  
Lageplan  
der „Rost-  
käfige“ auf  
dem Versuchs-  
feld Glies-  
marode.  
Maßstab  
1 : 1000.

In den Versuchen des Jahres 1933 wurde als Gelbrost wieder die Rasse 4, als Braunrost die Rasse 14 verwendet. Als gelbrostanfällige Sorte wurde Oregon-Weizen gewählt, der im Freien auch bei verhältnismäßig hohen Temperaturen Gelrostausbrüche aufzuweisen pflegt, als gelrostresistente Sorte wieder Heines Kolben Sommerweizen. Gegen die Braunrostrasse 14 sind beide Sorten anfällig.

Die Pflänzchen wurden am 5. Mai 1933 einpikiert. Nachdem sie angewachsen waren, setzten Mitte Mai die künstlichen Infektionen mit Gelrost (Käfig A), Anfang Juni mit Braunrost (Käfig C) ein, wobei wöchentlich zwei- bis dreimal mit Sporenaufschwemmungen in  $1/10\%$ igem Agar geimpft wurde. Die Kontrollgefäße wurden mit reiner Agarlösung ( $1/10\%$  Agar ohne Rostsporen) bespritzt.

Im Käfig A zeigte sich Anfang Juni auf Oregon gleichmäßiger Gelrostausbruch, während Heines Kolben erwartungsgemäß rostfrei blieb. Im B-Käfig, der nicht geimpft wurde, zeigte sich zu diesem Zeitpunkt vereinzelt hier und da ein Blatt mit schwachen Pustelausbrüchen, das sicherheitshalber entfernt wurde, was sich sehr bald jedoch als unzureichend erwies.

Die Braunrostinfektionen im Käfig C gingen nur in unbedeutendem Umfange an. Dafür traten auch hier vereinzelt spontane Gelrostausbrüche auf.

So blieb das Rostbild in den Käfigen A, B, C bis Mitte Juni, zu welcher Zeit die Pflanzen kurz vor dem Ährenaustritt standen. Von diesem Zeitpunkt an war im Käfig B sowohl auf Oregon wie auf Heines Kolben ein starkes Anwachsen der Gelrostausbrüche festzustellen; am 3. Juli lag schwerster Gelrostbefall vor. Im Käfig C zeigten sowohl Oregon wie Heines Kolben in schwachem Maße Braunrost, daneben Oregon mäßig starken Gelrostbefall, Heines Kolben in drei Versuchsgefäßen Gelroststreifen auf einzelnen Blättern, im vierten Gefäß etwas stärkeren Gelrostbefall.

In Käfig A blieb das Rostbild im Sinne des Versuchsplanes: der anfällige Oregon-Weizen zeigte von Mitte Juni bis Mitte Juli, also etwa vier Wochen lang, schwere Gelrostausbrüche, während Heines Kolben rostfrei blieb und auch am Ende der Vegetation nur Spuren von Gelrost zeigte.

Die Versuchsbeobachtungen und die sofort eingeleitete Kontrolle der auftretenden Gelrostformen ergaben, daß im Rostkäfig A programmatisch Gelroststrasse 4 vorlag, während es in den Käfigen B und C zu einer spontanen Infektion durch die auf dem Versuchsfelde vorhandene Gelroststrasse 1 gekommen war.

Mit dem unerwarteten Auftreten dieser Rasse war naturgemäß der eigentliche Versuchsplan über den Haufen geworfen, anderseits die Möglichkeit gegeben, einen näheren Einblick in die Bedeutung dieser schweren

Gelbrostausbrüche auf die Ertragshöhe zu gewinnen. Der sehr schwache Braunrostbefall auf den Pflanzen des Rostkäfigs C kann bei der weiteren Besprechung der Versuche außer acht gelassen werden, da er an Bedeutung gegenüber dem gleichzeitigen Gelbrostbefall gänzlich zurücktritt.

Das Rostbild der Versuchspflanzen, das wir der Besprechung der Ernteergebnisse zugrunde legen müssen, war also in der Zeit von Mitte Juni bis Mitte Juli folgendes:

Tabelle 4.  
Rostaufreten in den Gefäßversuchen des Sommers 1933 zu Gliesmarode.

Rostkäfig	Nachgewiesene Gelbrostrassen	Weizensorte	Stärke des Gelbrostbefalls
A	Nr. 4	Oregon Heines Kolben	7 Spur
B	Nr. 1 daneben Nr. 4	Oregon Heines Kolben	6—7 8
C	Nr. 1	Oregon Heines Kolben	4—5 2—3

Die außerordentlichen Unterschiede in der Befallsstärke äußern sich auch eindeutig in den Ertragsergebnissen der Versuchspflanzen.

Tabelle 5.  
Korn- und Stroherträge in den Gefäßversuchen des Sommers 1933 zu Gliesmarode.  
(Mittel aus je 4 Gefäßen)

Weizen-sorte	Käfig	Gelbrost-befall	Kornertrag			Strohertrag g
			g	Differenz %	Z	
Oregon	A	7	83,28 ± 2,9	A—C = — 13,8 %	2,02	179,0 ± 3,5
	B	6—7	85,10 ± 1,2	B—C = — 11,9 %	1,87	196,3 ± 7,8
	C	4—5	96,60 ± 6,0	A—B = — 2,1 %	0,58	219,3 ± 4,1
Heines Kolben	A	Spur	106,87 ± 1,9	B—A = — 25,6 %	5,28	293,2 ± 2,4
	B	8	79,60 ± 4,8	B—C = — 24,1 %	4,72	244,5 ± 7,5
	C	2—3	104,96 ± 2,4	C—A = — 1,8 %	0,62	286,75 ± 4,9

Bei der Auswertung der mit Oregon-Weizen durchgeführten Versuche fehlen infolge der Spontaninfektion mit Gelbrost Vergleichspflanzen, die rostfrei oder fast rostfrei sind; wir können hier also nur die Wirkungen eines starken Rostbefalles mit denen eines weniger starken vergleichen. Das stärkere Rostaufreten im B-Käfig hat den Ertrag um 11,9%, der noch etwas stärkere und vor allem früher einsetzende Befall im A-Käfig den Ertrag um 13,8% gemindert.

Bei Heines Kolben haben wir im A-Käfig einen Kontrollversuch, der praktisch rostfrei geblieben ist; das schwache Rostauftreten im C-Käfig hat den Ertrag kaum herabgesetzt. Dagegen beobachten wir bei den stark befallenen Pflanzen des B-Käfigs einen Ertragsrückgang von 25,6%, der fehlerkritisch gut gesichert ist.

Die Minderung des Strohertrages geht den eben besprochenen Ertragsdepressionen der Körnerernte annähernd parallel.

### 3. Versuche mit Schwarzrost (Feldversuch 1930 in Schlanstedt).

#### Auswahl der Versuchssorten.

Die verwendete Schwarzrostrasse war 1927 in Schlanstedt gesammelt und seitdem im Gewächshaus weiter kultiviert; nach bisher unveröffentlichten Versuchen von Herrn Dr. Hassebrauk, dem wir für die Bekanntgabe seiner Befunde dankbar sind, handelt es sich um die Schwarzrostrasse 79. Auf Grund entsprechender Feldbeobachtungen und der Ergebnisse von besonderen Gewächshausprüfungen wurden Strubes Roter Schlanstedter Sommerweizen und v. Rümkers Sommerdickkopf als anfällige, Janetzkis früher Sommerweizen als resistente Sorte für die Versuche des Sommers 1930 ausgewählt.

Die Gewächshausprüfung hatte für diese Sorten bei Temperaturen von 15—25° folgendes Rostverhalten ergeben:

#### Infektionstypus:

Strubes Roter Schlanstedter . . . .	IV
v. Rümkers Sommerdickkopf . . . .	IV
Janetzkis früher Sommerweizen . . .	0 bis I.

#### Anordnung der Versuchsparzellen und allgemeine Versuchsdurchführung.

Der Schwarzrost-Feldversuch des Jahres 1930 in Schlanstedt ist nach den gleichen Grundsätzen und in derselben Weise durchgeführt wie der weiter oben besprochene Feldversuch dieses Jahres mit Gelbrost. Es genügt deshalb, auf die früheren Ausführungen (S.484) zu verweisen; in dem in Abbildung 1 wiedergegebenen Gesamtplan ist auch der auf der Nordhälfte des Schlages „Kuhburg“ befindliche Schwarzrostversuch mit eingezzeichnet. Anordnung, Parzellengröße, Aussaat und Ernte sind die gleichen wie in dem ausführlich beschriebenen Gelrostversuch desselben Jahres.

#### Durchführung der Rostinfektionen und Rostbeobachtungen.

Die Impfung der Versuchsparzellen erfolgte am 20. und 28. Juni durch Bespritzen mit Uredosporenaufschwemmungen. Aus Sicherheitsgründen wurden am 2. Juli nochmals Blätter einzelner Pflanzen mit Wattepinsel

beimpft, doch konnten bereits am gleichen Tage auf v. Rümkers Sommerdickkopf und zwei Tage später auch auf Strubes Rotem Schlanstedter die ersten Schwarzrostausbrüche gefunden werden, so daß von weiteren künstlichen Impfungen abgesehen wurde.

Das Rostbild gestaltete sich auf den geimpften Versuchsparzellen folgendermaßen:

Strubes Roter Schlanstedter Sommerweizen:

am 4. Juli schwacher Pustelausbruch (Stärke 2),

am 21. Juli Roststärke 4—5,

am 2. August auf Blattspreiten und Blattscheiden verhältnismäßig schwerer Schwarzrostbefall (Stärke 7); der Befall entsprach durchaus einem stärkeren Rostaufreten in Schwarzrostjahren.

v. Rümkers früher Sommerdickkopf:

am 4. Juli etwas stärkerer Pustelausbruch als auf Rotem Schlanstedter (Stärke 3),

am 21. Juli erheblicher Befall auf Blattspreiten und Blattscheiden (Roststärke 6), also deutlich stärker als auf Rotem Schlanstedter,

am 2. August auf Blattspreiten und Blattscheiden Roststärke 7, also gleich stark wie auf Rotem Schlanstedter.

Janetzkis früher Sommerweizen:

am 4. Juli kein Rost,

am 21. Juli Spuren von Schwarzrost, jedoch zeigten sich auf den infizierten Parzellen starke gelbliche Verfärbungen der Blätter,

auch in der Folgezeit ergaben sich nur schwache Pustelausbrüche (Stärke 1—2).

Die erstrebten und erwarteten Befallsunterschiede waren also in vollem Umfange eingetreten; Störungen durch andere Schwarzrostrassen liegen nicht vor.

Die Kontrollparzellen zeigten sich zunächst frei von Schwarzrost; am 21. Juli war auf drei Kontrollparzellen von Strubes Rotem Schlanstedter auf einer Länge von etwa 3 m schwacher Schwarzrostausbruch festzustellen, während die Parzellen sonst bis zum 2. August fast frei von Schwarzrost blieben. An diesem Tage wurde auf Rotem Schlanstedter durchgehend etwa Befallsstärke 2, auf v. Rümkers Sommerdickkopf Stärke 2—3 bonitiert, während Janetzkis früher Sommerweizen nur Spuren von Schwarzrost aufzuweisen hatte.

Es hat sich also ein schwacher Befall der Kontrollstücke nicht vermeiden lassen; dieser steht jedoch quantitativ in keinem Verhältnis zu dem schweren Befall der künstlich infizierten Parzellen, so daß der Versuch vom Standpunkt der beabsichtigten Befallsunterschiede als vollkommen gelungen zu bezeichnen ist.

Störungen durch andere Rostarten lagen ebenfalls nicht vor. Gelbrost trat in ganz geringen Spuren auf, Braunrost ebenfalls nur in geringem Maße und in gleicher Weise auf „Schwarzrost“ und Kontrollparzellen, so daß das an sich unbedeutende Auftreten im folgenden vernachlässigt werden kann.

### Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen 6 und 7 zusammengestellt.

Im Körnertrag weisen alle drei Weizensorten Mindererträge der Schwarzrostparzellen gegenüber den Kontrollparzellen auf. Janetzkis früher Sommerweizen zeigt eine Ertragsminderung von 7,3%, die überrascht, weil der Schwarzrostbefall auf dieser Sorte nur sehr gering war; die Erklärung liegt offensichtlich in den starken Vergilbungen der Blätter, die als Folge der vorgenommenen künstlichen Impfungen auftraten (vgl. auch Straib, 38). Hier gibt also die an Hand des tatsächlichen Pustelausbruches erfolgte Bonitierung des Rostbefalles ein unzureichendes Bild.

Den stärksten Rückgang des Körnertrages (— 24%) haben wir beim Roten Schlanstedter Sommerweizen, während bei v. Rümkers Sommerdickkopf eine Ertragsdepression von nur 17,6% festgestellt wurde. Dieser Unterschied ist bemerkenswert und nicht ohne weiteres verständlich, weil der Schwarzrostbefall des letztgenannten Weizens stärker war als der des Roten Schlanstedters. Die einzige Erklärungsmöglichkeit sehen wir in dem verschieden schnellen Ablauf der Vegetation bei diesen beiden Sommerweizen. v. Rümkers Sommerdickkopf vollzieht sehr rasch den Übergang von Milchreife zur Gelb- und Vollreife, so daß damit die schädigende Wirkung des Rostbefalles im Vergleich zu dem langsamer reifenden Roten Schlanstedter abgekürzt wird. Auf jeden Fall warnen die an v. Rümkers Sommerdickkopf gemachten Feststellungen vor einer Überschätzung der ertragsherabsetzenden Wirkung eines schweren Schwarzrostbefalles bei solchen Sorten, die durch einen schnellen Eintritt der Reife ausgezeichnet sind. Der Vorzug früher Sorten scheint also bezüglich der Schwarzrostgefahr ein doppelter zu sein. Einmal ist naturgemäß die Schwarzrostgefahr bei solchen Sorten unter normalen Verhältnissen geringer als bei später reifenden; die von uns durchgeführte künstliche Infektion hat in dieser Hinsicht unnatürliche Verhältnisse geschaffen. Sodann aber wird die schädigende Rostwirkung durch das schnellere Eintreten der Gelb- und Vollreife offensichtlich abgekürzt.

Der Strohertrag weist nur bei Rotem Schlanstedter eine deutliche Depression als Folge des Schwarzrostbefalles auf. Bei v. Rümkers Sommerdickkopf liegt der Strohertrag der rostigen Parzellen merkwürdigerweise etwas höher als bei den Kontrollparzellen, während Ja-

Tabelle 6.  
Korn- und Stroherträge des Schwarzrostversuchs mit Sommerweizen in Schlanstedt 1930.  
(Durchschnitt für 6 Parzellen.)

Weizensorte	Korn ertrag (kg) bei 14% Feuchtigkeit				Strohertrag (kg)			
	Kontroll-parzellen a	Schwarzrost-parzellen b	Differenz b-a	Z	Kontroll-parzellen a	Schwarzrost-parzellen b	Differenz b-a	%
		%						
Strubes Roter Schlanstedter	2,475 ± 0,08	1,880 ± 0,06	- 24,0	5,95	7,25 ± 0,18	6,35 ± 0,16	- 12,4	
v. Rümkers Sommer-Dickkopf	2,778 ± 0,09	2,290 ± 0,04	- 17,6	4,98	6,03 ± 0,12	6,54 ± 0,13	+ 7,8	
Janetzkis früher Sommer-Weizen . . . . .	1,602 ± 0,04	1,485 ± 0,03	- 7,3	2,34	7,71 ± 0,28	7,50 + 0,18	- 2,7	
Haferkontrolle . . . . .	13,2 ± 0,26	13,3 ± 0,25	+ 0,8	0,28	vacat	vacat	vacat	

Tabelle 7.  
Kornbeschaffenheit im Schwarzrostversuch 1930 zu Schlanstedt.

Weizensorte	Viertellitergewicht (g)				1000-Korngewicht (g)				'Absiebungsprozent bei 2,5 mm			
	Kontroll-parzellen a	Schwarz-rost-parzellen b	Differenz b-a	Z	Kontroll-parzellen a	Schwarz-rost-parzellen b	Differenz b-a	Z	Kontroll-parzellen a	Schwarz-rost-parzellen b	Differenz b-a	Z
		%				%						
Strubes Roter Schlanstedter . . .	190 ± 0,5	183 ± 0,6	- 3,7	8,96	56,7 ± 0,8	45,1 ± 1,0	- 20,5	9,06	9,2 ± 0,5	19,5 ± 0,7	+ 112	11,98
v. Rümkers Sommer-Dickkopf . . .	183 ± 0,8	175 ± 0,6	- 4,4	8,0	59,6 ± 0,7	51,2 ± 0,6	- 14,1	9,13	12,5 ± 0,9	13,7 ± 0,8	+ 9,6	1,0
Janetzkis früher Sommer-Weizen .	181 ± 1,4	176 ± 1,3	- 2,8	2,62	43,4 ± 0,5	42,1 ± 0,3	- 3,0	2,24	15,8 ± 0,9	17,4 ± 0,5	+ 10,1	1,55

netzkis früher Sommerweizen nur einen ganz geringen Unterschied zwischen beiden Anordnungen zeigt.

Das Viertellitergewicht weist bei den Rostparzellen für sämtliche drei Sorten einen schwachen Rückgang auf. Erheblich ist dagegen die durch Schrumpfung verursachte Herabsetzung des Tausendkorngewichtes, die für Roten Schlanstedter mit 20,5% und für v. Rümkers Sommerdickkopf mit 14,1% auch fehlerkritisch gesichert ist. Beträchtlich ist weiter das Absiebungsprozent für den Roten Schlanstedter, das über doppelt so hoch liegt wie bei den Kontrollen, während die Zunahme bei v. Rümkers Sommerdickkopf und Janetzkis frühem Sommerweizen geringer bleibt und fehlerkritisch nicht gesichert ist.

#### 4. Besprechung der Ergebnisse.

In den vorliegenden Untersuchungen haben wir uns auf die Prüfung der unmittelbaren Auswirkung des Rostbefalls auf die Ertragshöhe des Weizens unter feldmäßigen Bedingungen beschränkt, wobei die Gelbrostbeobachtungen im Vordergrund stehen. Es gelang uns dabei erstmals, die bisherige Schätzung der Gelrostschäden durch exakte Versuchsunterlagen zu sichern. Ein vierwöchiger mäßig starker Gelrostbefall bewirkte bei anfälligen Weizensorten eine Körnertragsdepression von 10 bis 18%, ein fünfwochiger starker Befall eine solche von 25%. Ein nur etwa zwei Wochen in voller Stärke andauernder Schwarzrostbefall hatte Ertragsverminderungen von 17,6 bis 24% zur Folge. Bei der Beurteilung der Schäden müssen wir weiter berücksichtigen, daß in diesen Zahlen nur die quantitative Seite der Schädigung erfaßt wird. Jedoch erscheint auch die qualitative Beeinträchtigung der Weizenernte nicht unerheblich. Unsere Untersuchungen zeigen, daß sich bei stärkerem Rostbefall das Hektolitergewicht und das Tausendkorngewicht deutlich verringern, während das Absiebungsprozent entsprechend höher zu liegen kommt. Nach den Feststellungen amerikanischer Autoren (Caldwell und Mitarbeiter, 5) müssen wir weiter damit rechnen, daß auch Klebergehalt und Backfähigkeit rostigen Weizens eine Verschlechterung erfahren.

Die Ertragsdepression erklärt sich nach den im obigen mitgeteilten Befunden mindestens zu einem Teil durch die Minderung des Tausendkorn- und des Hektolitergewichtes. Ob damit die den Ertrag beeinflussenden Komponenten vollständig erfaßt sind, muß vor allem in den Fällen zweifelhaft erscheinen, in denen, wie in unseren Gelrostversuchen, der Rostbefall in die Zeit vor der Blüte fällt; nach den Ergebnissen verschiedener Autoren (Pesola, 31; Mains, 26; Johnston, 21; Murphy, 28) ist auch der durch die Rostinfektion verminderte Kornansatz für die Ertragsausfälle von entscheidender Bedeutung. Auf jeden Fall müssen wir mit der Möglichkeit rechnen, daß unter gewissen Be-

dingungen der Ausfall im Körnertrag auf eine Verminderung der Kornzahl je Ähre zurückzuführen ist.

Die Höhe des Schadens hängt naturgemäß sowohl von der jeweiligen Stärke der Gesamtinfektion, wie aber auch von der Dauer des Rostbefalls ab. Es erscheint uns zweckmäßig, für die Beurteilung der Rostschäden den Begriff des „Schädigungskoeffizienten“ einzuführen; als „Schädigungskoeffizienten“ bezeichnen wir die prozentuale Ertragsdepression, die der einwöchige Rostbefall einer bestimmten Stärke zu bewirken vermag. Nach unseren Versuchen hat ein mittelschwerer Gelbrostbefall während der eigentlichen vegetativen Entwicklung des Weizens für jede Woche eine Ertragsdepression von etwa 3%, ein schwerer Gelbrostbefall eine solche von 5% zur Folge gehabt. Bei starkem Schwarzrostbefall liegen diese Werte noch höher; in der Praxis wirkt sich dies allerdings deshalb meist weniger aus, weil sich ein wirklich starker Schwarzrostbefall in unserem Klima meist nur verhältnismäßig kurze Zeit vor der Ernte bemerkbar macht. Andererseits muß beim Gelrost der Schaden dann besonders stark werden, wenn er sich, wie in dem Rostjahr 1926, über einen großen Teil der Vegetationsperiode (von März bis Mitte Juli hinein) in voller Stärke erhält.

Die von uns gefundenen Schädigungskoeffizienten sollen nur einen gewissen Anhalt zur Beurteilung der Ertragsdepressionen durch Rostbefall abgeben; eine Verallgemeinerung ist naturgemäß nur mit Vorbehalt möglich, da Schwankungen der Intensität, sowie örtliche und klimatische Besonderheiten sicherlich eine im einzelnen unübersichtliche Rolle spielen. Da die von uns gewählten Versuchsjahre jedoch, wie das allgemeine Rostaufreten zeigt, durchaus keine typischen Rostjahre darstellen, werden wir aber kaum in der Annahme fehlgehen, daß die von uns gefundenen Schädigungskoeffizienten keineswegs Maximalwerte darstellen, sondern sich eher der unteren Grenze nähern oder als Normalfall betrachtet werden dürfen. So liegen die von Pesola (31) in den Jahren 1924 bis 1926 in Finnland ermittelten Kornverluste durch Gelrostbefall größtenteils über unseren maximalen Werten; auch diese werden jedoch noch erheblich übertroffen durch die von Rudorf und Job (34) 1930 bis 1932 in Argentinien festgestellten Gelrostschäden, die sich im Körnertrag beispielsweise der Sorte „Record“ mit einem Verlust bis zu zwei Dritteln der normalen Ernte auswirkten.

Unsere Versuchsergebnisse zeigen weiter, daß sich sowohl die Gelrost- wie die Schwarzrostschäden durch Anbau bestimmter Weizensorten vermindern lassen. Dabei scheint es nicht erforderlich, unbedingt auf hoch resistente Weizensorten zurückzugreifen. Vielmehr kann der Schädigungsgrad der einzelnen anfälligen Weizensorten auch bei äußerlich wenig verschiedenen starkem Gelrost- und Schwarzrostbefall verschieden stark zum Ausdruck kommen. Von Bedeutung ist auch die aus dem Vergleich

der verwendeten Sorten hervorgehende Feststellung, daß stark rostige Weizensorten in einer bestimmten Gegend trotz des Rostbefalls im Ertrag immer noch wesentlich besser abschneiden können als bestimmte resistente Sorten. In dieser Hinsicht geben die alljährlich vom Reichsnährstand durchgeführten vergleichenden Sortenanbauversuche weitere und sehr wertvolle Hinweise, vor allem, soweit es sich um Versuche in Rostjahren handelt. Die Auswertung dieser Versuche und die Feststellung der Ertragstreue bei Rostbefall wird allerdings nur von Fall zu Fall und bei kritischer Würdigung aller Versuchsverhältnisse in einwandfreier Weise möglich sein.

Ein tieferer und kausaler Einblick in das Wesen der Rostschäden hat naturgemäß eine genaue Kenntnis der Änderungen zur Voraussetzung, welche die wichtigsten physiologischen Prozesse der Getreidepflanzen durch den Rostbefall erleiden. Durch die Untersuchungen von Caldwell und Mitarbeitern (5), Gaßner und Goeze (8), Kokin und Toomarinson (25, 39) und Yarwood (40) ist die Depression der Assimilationsgröße nachgewiesen, zum Teil auch quantitativ ausreichend genau bestimmt. Die von Gaßner und Goeze gefundene Herabsetzung der Assimilationsgröße gelbrostinfizierter Weizenblätter bewegt sich in einer Größenordnung, die dem im obigen festgestellten Schädigungskoeffizienten entspricht, wenn wir berücksichtigen, daß die Assimilationsgröße nicht sofort nach der eingetretenen Infektion absinkt, sondern erst dann, wenn das Eintreten von Blattverfärbungen den ersten äußeren Infektionserfolg anzeigt. Im übrigen ist natürlich die Assimilationsgröße nur ein, allerdings ein sehr wichtiger Faktor. Hinzu kommen starke Verschiebungen des Stickstoffhaushaltes der befallenen Blätter, sowie vor allem auch die Steigerung der Transpirationsgröße rostiger Pflanzen im Vergleich zu gesunden, worüber in einigen neueren Arbeiten (Murphy 28, 29; Johnston und Miller, 22; Gaßner und Goeze, 8) übereinstimmend berichtet wird. So ergibt sich ein recht mannigfaltiges Bild der Zusammenhänge zwischen Rostbefall und Ertragshöhe, das uns vor allem die Tatsache verständlich macht, daß der durch Rostbefall bedingte Schaden sich unter verschiedenen äußeren Verhältnissen verschieden stark auswirkt, und daß sich auch Sortenunterschiede in besonderer Weise bemerkbar machen können. Zu berücksichtigen ist natürlich auch, daß die Schädigungen durch verschiedene Rostarten ebenfalls noch auf ungleichem Wege zustande kommen können. Bei Gelbrost müssen wir in erster Linie die Beeinflussung der normalen Blattätigkeit in Rechnung stellen; bei Schwarzrostauftreten an Blattscheiden und Halmen reifender Getreidepflanzen handelt es sich aber mehr oder minder auch um Störungen der Saftzufuhr zu den Ähren. Wir werden auch aus diesem Grunde nicht erwarten dürfen, daß sich die durch verschiedene Rostarten bedingten Schäden bei denselben Getreidesorten immer in gleichem Umfang auswirken.

### 5. Zusammenfassung.

1. Die vorstehenden Untersuchungen befassen sich mit den Ertragsminderungen verschieden anfälliger Weizensorten durch Gelbrost (*Puccinia glumarum*) und Schwarzrost (*Puccinia graminis*), wobei durch besondere Versuchsanstellung die Erträge rostiger Parzellen mit denjenigen rostfreier bzw. weniger stark befallener Parzellen in Vergleich gesetzt wurden.

2. In den Feldversuchen des Jahres 1930 bedingte ein mäßig starker, etwa vier Wochen (Ende Mai bis Ende Juni) anhaltender Gelbrostbefall auf einer anfälligen Sommerweizensorte (Roter Schlanstedter) eine Depression der Körnerernte von 14 %.

3. Die Feldversuche des Jahres 1931 brachten auf drei anfälligen Winterweizensorten Ertragsdepressionen von 11 bis 18% durch einen ebenfalls mäßig starken und etwa vier Wochen (Mitte Mai bis Mitte Juni) anhaltenden Gelbrostbefall.

4. Die im Freiland durchgeführten Gefäßversuche des Sommers 1933 ergaben bei Heines Kolben-Sommerweizen durch schweren, etwa fünf Wochen währenden Gelbrostbefall eine Ertragsverminderung im Korngewicht von 25% (Vergleich der schwer rostigen Pflanzen mit fast unbefallenen Kontrollpflanzen). Bei Oregon-Weizen bedingte ein gleich langer und fast ebenso schwerer Gelbrostbefall eine Ertragsherabsetzung von 14% gegenüber solchen Pflanzen der gleichen Sorte, die nur mäßig stark befallen waren.

5. Parallel zu den Gelbrostversuchen des Jahres 1930 in analoger Weise durchgeführte Schwarzrostversuche zeigten bei einem etwa zwei Wochen anhaltenden, verhältnismäßig starken Schwarzrostbefall bei Rotem Schlanstedter Sommerweizen einen gesicherten Verlust im Körnertrag um 24%, bei v. Rümkers Sommer-Dickkopf mit gleich starkem Befall einen Ertragsausfall von nur 14%.

6. Als „Schädigungskoeffizienten“ bezeichnen wir die prozentual berechnete Ertragsdepression, die ein einwöchiger Rostbefall einer bestimmten Stärke zu bewirken vermag.

7. Sowohl bei Gelb- wie auch bei Schwarzrostbefall konnte neben den quantitativen Ertragsverlusten eine erhebliche Qualitätsminderung des Kernes festgestellt werden. Rostiger Weizen zeigt ein niedrigeres Hektolitergewicht und Tausendkornengewicht und entsprechend ein höheres Absiebungsprozent.

8. Unter gleicher Infektionsstärke erhalten wir bei Gelrost-, besonders aber bei Schwarzrostbefall je nach Weizensorte unterschiedliche Ertragsausfälle. Resistente Sorten erleiden die relativ geringsten Verluste.

9. Die Versuche, die unter vollständig naturgemäßen Bedingungen durchgeführt sind, zeigen uns eindeutig die Schäden, die in Rostjahren

durch Gelbrost- oder Schwarzrostbefall hervorgerufen werden. Sie lassen gleichzeitig aber erkennen, daß auch in Nicht-Rostjahren schon bei einem mäßig starken Befall durch Gelbrost erheblich ins Gewicht fallende Ertragsverluste bewirkt werden.

### 6. Schriftenverzeichnis.

- 1 Appel, O. Die wirtschaftliche Bedeutung der Pflanzenkrankheiten und die Mittel zu ihrer Bekämpfung. Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, Heft 314, 1921, Seite 101.
- 2 Armstrong, S. F. The mendelian inheritance of susceptibility and resistance to yellow rust (*Puccinia glumarum* Erikss. et Henn.) in wheat. Journ. of Agric. Science, **12**, 1922, 57—96.
- 3 Bailey, D. L. Studies on cereal diseases. Can. Dept. Agr. Bul. 106, n. s. 1928.
- 4 Biffen, R. H. Studies in the inheritance of disease resistance. Journ. Agric. Science, **2**, 1907, 109—128.
- 5 Caldwell, R. M., Kraybill, H. R., Sullivan, J. T and Compton, L. E. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on yield, physical characters, and composition of winter wheats. Journ. Agric. Res., **48**, 1934, 1049—1071.
- 6 Dodoff, D. N. Die epidemische Entwicklung der Weizenroste in Nordbulgarien im Jahre 1932. Phytopathologische Zeitschrift, **6**, 1933, 111—112.
- 7 Eriksson, J. und Henning, E. Die Getreideroste. Stockholm 1896.
- 8 Gaßner, G. und Goeze, G. Einige Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit rostinfizierter Getreideblätter. Phytopathologische Zeitschrift, **9**, 1936.
- 9 Gaßner, G. und Hassebrauk, K. Beiträge zur Kenntnis des Spargelrostes. Die Gartenbauwissenschaft, **8**, 1934, 455—476.
- 10 Gaßner, G. und Straib, W. Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Weizensorten gegen *Puccinia glumarum*. Phytopathologische Zeitschrift, **1**, 1929, 215—275.
- 11 Gaßner, G. und Straib, W. Beitrag zur Frage der Getreiderostbekämpfung auf chemischem Wege. Phytopath. Zeitschrift, **2**, 1930, 361—376.
- 12 Gaßner, G. und Straib, W. Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizen-gelrostes. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, **20**, 1932, 141—163.
- 13 Gaßner, G. und Straib, W. Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie des Gelrostes. Phytopathologische Zeitschrift, **7**, 1934, 285—302.
- 14 Goulden, C. H and Elders, A. T. A statistical study of the characters of wheat varieties influencing yield. Sci. Agric., **6**, 1926, 337—345.
- 15 Goulden, C. H. and Greaney, F. J. The relation between stem rust infection and the yield of wheat. Sci. Agric., **10**, 1930, 405—410.
- 16 Greaney, F. J. The influence on yield and grade of harvesting rusted wheat at different stages of maturity. Sci. Agric., **11**, 1931, 492—511.
- 17 Greaney, F. J. Method of estimating losses from cereal rusts. Proceedings of the World's Grain Exhibition and Conference, Canada, 1933, Volume II, 224—236.
- 18 Greaney, F. J. The prevention of cereal rusts by the use of fungicidal dusts. Dominion of Canada, Dept. of Agric., Bull. Nr. 171, new ser. Ottawa 1934.
- 19 Hayes, H. K., Aamodt, O. S., and Stevenson, F. J. Correlation between yielding ability, reaction to certain diseases, and other characters of spring and winter wheat in rod row trials. Journ. Americ. Soc. Agron., **19**, 1927, 896—910.
- 20 Immer, F. R., and Stevenson, F. J. A biometrical study of factors affecting yield in oats. Journ. Americ. Soc. Agron., **20**, 1928, 1107—1119.

- 21 Johnston, C. O. Effect of leaf rust infection on yield of certain varieties of wheat. *Journ. Americ. Soc. Agron.*, **23**, 1931, 1—12.
- 22 Johnston, C. O., and Miller, E. C. Relation of leaf-rust infection to yield, growth and water economy of two varieties of wheat. *Journ. Agric. Res.*, **49**, 1934, 955—981.
- 23 Kightlinger, C. V., and Whetzel, H. H. Second report on dusting for cereal rusts. *Phytopathology*, **16**, 1926, 64.
- 24 Klemm, M. Ernteschäden durch Schwarzrost in Deutschland im Jahre 1932. *Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzzdienst*, **14**, 1934, 9—11.
- 25 Kokin, A. J., and Toomarinson, Chr. S. The physiological basis of the injuriousness of oat rust. *Bull. of Plant Protection, II. Series: Phytopathology*, Nr. 6, 1934, Leningrad.
- 26 Mains, E. B. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina* Erikss.) on yield of wheat. *Journ. Agric. Res.*, **40**, 1930, 417—446.
- 27 Morstatt, H. Schadensschätzung im Pflanzenschutz. *Berichte über Landwirtschaft*, Band 8, 1928.
- 28 Murphy, H. C. Effect of crown rust infection on yield and water requirement of oats. *Journ. of Agric. Res.*, **50**, 1935, 387—411.
- 29 Murphy, H. C. Effect of crown rust on the composition of oats. *Phytopathology*, **26**, 1936, 220—234.
- 30 Neill, J. C. Effect of rusts and mildews on yield and quality of wheat. New Zealand. *Journ. of Agric.*, **43**, 1931, 44—45.
- 31 Pesola, V. A. Kevätvehnän keltaruosteenkestävyydestä. Abstract: On the resistance of spring wheat to yellow rust. *Valtion Maatalouskoetoiminnan Julkaisuja* No. 8 (Publications of the Agricultural Research of Finland). Helsinki 1927.
- 32 Pretorius, W. J. Losses caused by rust in wheat. *Farming in South Africa*, **8**, 1933, 12—13.
- 33 Rozinov, P. G. An investigation under field conditions of the injuriousness of some diseases affecting cereals. *Bull. of Plant Protection, II. Series: Phytopathology*, Nr. 4, 1934, Leningrad.
- 34 Rudorf, W. und Job, M. Untersuchungen bezüglich der Spezialisierung von *Puccinia graminis tritici*, *Puccinia triticina* und *Puccinia glumarum tritici*, sowie über Resistenz und ihre Vererbung in verschiedenen Kreuzungen. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, Reihe A, **19**, 1934, 332—365.
- 35 Scott, R. C. Rust in wheat crops in South Australia, season 1932—33. *Journ. Dept. Agric. South Australia*, **36**, 1144, 1146—47.
- 36 Sorauer, P. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 5. Auflage, herausgegeben von O. Appel, Band 3, 2. Teil, Berlin 1932, Seite 35 ff.
- 37 Stakman, E. C. The black stem rust and the barberry. *Dept. Agric., Yearbook* 1918, Nr. 796.
- 38 Straib, W. Untersuchungen über erbliche Blattnekrosen des Weizens. *Phytopathologische Zeitschrift*, **8**, 1935, 541—587.
- 39 Toomarinson, Chr. T. On the physiological basis of scales for estimating the injuriousness of rust. *Bull. of Plant Protection, II. Series: Phytopathology*, Nr. 6, 1934, Leningrad.
- 40 Yarwood, C. E. Effect of mildew and rust infection on dry weight and respiration of excised clover leaflets. *Journ. Agric. Res.*, **49**, 1935, 549—558.



Aus dem Botanischen und Pflanzenpathologischen Institut  
der Technischen Hochschule in München.

## Über Begriff und Wesen der Bodenmüdigkeit.

Von  
Karl Rippel.

Soviel erörtert die Frage der Bodenmüdigkeit ist, die Grundfrage harrt nach wie vor einer eindeutigen Klärung. Hier ist — das möchte ich vorwegnehmen — eine zufriedenstellende Beantwortung solange nicht möglich, als in der einschlägigen Terminologie keine Klarheit besteht.

Da lesen wir von Kleemüdigkeit, Flachsmüdigkeit, Rüben-, Erbsen-, Luzernemüdigkeit und so weiter und gemeint ist immer zugleich auch Bodenmüdigkeit, und eben darin liegt die Ursache der ganzen Verwirrung; denn die Voraussetzungen zur Müdigkeit sind von Fall zu Fall ganz verschiedener, meist noch unbekannter Natur, so daß uns der Begriff „Bodenmüdigkeit“ wie eine Verlegenheitsantwort vorkommt für eine Reihe symptomatisch gleicher Erscheinungen.

Wollen wir den Begriff Bodenmüdigkeit zerflicken, dann tritt zunächst die Frage an uns heran, wie weit wir diesen Begriff überhaupt fassen wollen.

Das Wesen der Bodenmüdigkeit läßt sich am besten an der Namengebung selbst ableiten. Es handelt sich eben um eine im Boden eintretende Müdigkeit infolge fortgesetzter einseitiger Belastung des Bodens durch ein und dieselbe Pflanze<sup>1)</sup>, die dann dem Boden gewissermaßen unbequem wird bzw. sich auf diesem Standort nicht mehr wohl fühlt. Wie jede biologisch definierbare Müdigkeit entsteht auch diese erst im Laufe einer bestimmten Zeit als Ausdruck einer einseitigen Überbelastung, die eine Erholung nicht mehr ermöglicht. Damit habe ich die Antwort im Prinzip bereits gegeben: Die primäre Ursache der Bodenmüdigkeit ist stets und unmittelbar bei der Pflanze selbst zu suchen. Mit dieser Feststellung wird etwas grundsätzlich wichtiges ausgesprochen: Einmal scheidet eine Reihe sogenannter Müdigkeitserscheinungen aus dem Rahmen dieser Definition aus, zum anderen wird der Begriff Bodenmüdigkeit zu einem ökologischen Faktor erhoben; denn was das erstere anlangt, so hat zum Beispiel Rübenmüdigkeit im Sinne unserer Auffassung mit Bodenmüdigkeit nichts mehr zu tun, da ja die Ursache in diesem Falle nicht in der Pflanze (Rübe) zu erkennen ist,

<sup>1)</sup> Hier und im folgenden ist stets die höhere Pflanze gemeint.

sondern in den Älchen (Nematoden), welche die Rüben befallen und krank machen. Gewiß, der Boden ist für mehrere Jahre zum Anbau von Rüben ungeeignet, da sich die Älchen sehr lange im Boden erhalten. Dennoch ist es nicht angezeigt, von Bodenmüdigkeit zu sprechen. Dies würde dann berechtigt sein, wenn nach wiederholtem Rübenanbau stets eine zunehmende Ertragsverminderung zu verzeichnen wäre, unabhängig von einer parasitären Erkrankung der Rübe. Damit möchte ich dem Begriff „Müdigkeit“ den Begriff „Krankheit“ gegenüberstellen. Jener bezieht sich einzig und allein auf den Boden, dieser lediglich auf die Pflanze, so daß wir wohl besser von Älchenkrankheit sprechen als von Rübenmüdigkeit. Diese Trennung der Begriffe ist einmal notwendig. Die typischen Müdigkeitserscheinungen entstehen allmählich im Boden, hervorgerufen von seiten der Pflanze, die typischen Krankheitserscheinungen entstehen in der Pflanze, hervorgerufen durch parasitäre oder nichtparasitäre Ursachen, wie Pilze, Bakterien, Nährstoff- und sonstige Mängelscheinungen, Untergrund und andere.

In ökologischer Hinsicht erblicken wir nach oben Gesagtem in der Bodenmüdigkeit ohne weiteres einen Faktor, der sowohl für das Kommen und Verschwinden einzelner Vertreter der Flora wie auch für das Zustandekommen bestimmter Pflanzengesellschaften verantwortlich zu machen ist. Ja, gerade die Ökologie der Mikroflora in einem müden Boden stellt, wie später gezeigt werden soll, eine konkrete Handhabe dar, vielleicht die einzige, um dem Problem Bodenmüdigkeit näher zu kommen.

Worin liegt nun das Wesen dieser soeben begrifflich eng umschriebenen Bodenmüdigkeit?

Bereits L. Hiltner (1) hat das Müdigkeitsproblem mit der Bakterienflora im Boden in Beziehung gebracht, doch stützt sich seine Darstellung vornehmlich auf spekulative Überlegungen. Hiltner vertritt nämlich die Meinung, die im Boden lebende Bakterienflora sei in ihrer gegebenen Zusammensetzung den Kulturpflanzen schädlich, doch würden diese sekundär durch Wurzelausscheidungen gewisse Bakterien anziehen und in ihren Dienst stellen. Gelänge dies der Pflanze nicht, so würde Müdigkeit eintreten.

Hier zeigt sich uns ein Beispiel für die Tücke des Spekulierens. So fruchtbar diese Gedankenführung als Arbeitshypothese ist, die Tatsachen verhalten sich, aus den experimentellen Ergebnissen an hiesigem Institut zu schließen, gerade umgekehrt.

In einer jüngeren Arbeit von F. Vogel und E. Weber (2), die sich mit der Bodenmüdigkeit im Obstbau befaßt, gehen Verfasser einen Schritt weiter als Hiltner und schließen im Falle ihrer Untersuchungen aus einer vermindernten Mikroflora im Boden auf Müdigkeitserscheinungen, machen jedoch für den Rückgang dieser Flora mechanisch-physikalische

Bodenverhältnisse und Profilaufbau des Bodens verantwortlich, so daß wir es mit einer echten Bodenmüdigkeit im Sinne unserer Definition nicht zu tun haben.

In diesem Zusammenhang und als Gegenüberstellung zu den eingangs angeführten Erscheinungsformen aktiven und passiven pflanzlichen Reagierens muß noch auf jene Form echter pflanzlicher Müdigkeit hingewiesen werden, von der, im Gegensatz zur Bodenmüdigkeit, F. Merkenschlager (3) kürzlich zusammenfassend und unter Aufweisung neuer Gesichtspunkte berichtet hat. Wenn Merkenschlager auch kurz Stellung nimmt zur Frage der Bodenmüdigkeit, im Mittelpunkt seiner Abhandlung steht das Abbauproblem als eine Ermüdungserscheinung in der Pflanze. Es handelt sich hierbei um jene organismische Degeneration, die ein echtes Kranksein wohl noch nicht in seiner endlichen Form verkörpert, wie man auch von wahrhafter Gesundheit nicht mehr sprechen kann.

Zu den diagnostisch außerordentlich aufschlußreichen vornehmlich chemischen Versuchen, das Wesen der Pflanzenmüdigkeit zu erfassen, möchte ich die Frage zur Diskussion geben, ob die eigentliche Ursache des Abbaus nicht so sehr durch Imponderabilien bedingt ist, daß eine kausale Erfassung von der Chemie her sich überaus schwierig gestaltet. Mir erscheint ein abgebauter Organismus wie eine Erbmasse ohne Impuls. Doch liegt eine Diskussion dieser Frage in berufenen Händen, und wenn — eben als berufen — Merkenschlager das Abbauproblem physiologisch-chemisch „zwischen Atmung und Gärung“ erblickt, so darf ich noch hier eine Übertragung ins Biologische anfügen und das Problem als einen Prozeß zwischen Vitalität und Erschöpfung ansehen.

Handelt es sich bei Bodenmüdigkeit, um zum eigentlichen Thema zurückzukehren, um eine Erschöpfung der biologischen und biochemischen Bodenkraft, so bedeutet die Pflanzenmüdigkeit (Abbau) eine Erschöpfung der — vielleicht genetischen — Pflanzenkraft, die zur Degeneration führt.

Eine grundsätzlich neue Gedankenführung in der Frage der Bodenmüdigkeit bringt R. Gistl (4) in einer Untersuchung über Flachsmüdigkeit. Nicht nur, daß hier erstmalig die Bodenalgen als Testorganismen herangezogen werden, auch aus dem Verschwinden ganzer Algengruppen aus dem müden Boden einerseits und aus der Veränderung der generativen Entwicklung bestimmter Algen andererseits lassen sich wohl weitgehende Schlüsse auf das Wesen der Müdigkeit ziehen. Grundsätzlich dürfte feststehen, daß diese mit einer Veränderung des biologischen Bodenbildes Hand in Hand geht. Ist die Annahme, daß hierfür Wurzelausscheidungen verantwortlich zu machen sind — und dazu soll der nachfolgende Bericht eine wesentliche Stütze darstellen — richtig, so können wir auch definieren: Bodenmüdigkeit ist eine pflanzenspezifische Ver-

schiebung des biologischen Gleichgewichtes als Folge art-eigener Wurzelausscheidungen.

Wenn man in diesem Zusammenhang von einer Verschiebung des biologischen Gleichgewichts im Boden spricht, so ist diese naturgemäß von „Müdigkeitsfall“ zu „Müdigkeitsfall“ verschieden, so daß man von Gleichgewichtsverschiebung schlechthin nicht sprechen kann. Diese ist vielmehr derart spezifisch, daß man aus der Mikroflora eines müden Bodens geradezu auf die systematische Zugehörigkeit der ursächlichen Pflanze würde schließen können. So versteht man auch ohne weiteres, daß auf einem flachsmüden Felde Roggen und Gerste ohne Schaden gedeihen.

### Experimenteller Bericht.

Gelegentlich einer Untersuchung von *Pisum sativum* auf Wuchsstoffgehalt, worüber in den „Berichten der Biochemischen Zeitschrift“ eine nähere Mitteilung erscheint, machte ich die Feststellung, daß in synthetischer Nährlösung, der wäßriger Auszug von *Pisum sativum* zugesetzt wurde, eingepfoste Zellen von *Saccharomyces cerevisiae* sich nicht vermehrten, so daß wider Erwarten eine Hefeentwicklung nicht zu stande kam. Diese auffallende Beobachtung veranlaßte mich zur Durchführung weiterer Experimente. Vor allem zog ich eine große Anzahl anderer Pilze als Testorganismen heran, nämlich *Aspergillus niger*, *Penicillium Schneggii*, *Rhizopus nigricans*, *Absidia glauca*, *Mucor racemosus*, *Phycomyces Blakesleeanus*, *Saccharomyces Logos*, *Sacch. ellipsoïdes*, *Sacch. turbidans*, *Sacch. Pastorianus*, eine *Mycoderma*, eine *Willia*, eine *Apikulatus*-Hefe und eine *Torula*. Dabei stellte sich heraus, daß diese sämtlich eine gute Entwicklung zeigten mit Ausnahme all jener, die der Gattung *Saccharomyces* angehören. Diese ergaben ebenso wenig ein Erntegewicht wie zuvor *Saccharomyces cerevisiae*.

Es lag nun die Annahme sehr nahe, daß in *Pisum sativum*, und war, wie ich zeigte, in allen Teilen (Wurzel, Sproß und Kotyledonen) ein spezifisch für die Gattung *Saccharomyces* wachstumshemmender Stoff enthalten ist. Diese Vermutung konnte auch bestätigt werden. Schüttelt man nämlich den wäßrigen *Pisum*-Auszug mit Kohle und setzt das Filtrat der synthetischen Nährlösung zu, dann zeigt die Hefe eine gute Entwicklung. Desgleichen wenn man den *Pisum*-Auszug mit Natronlauge kurz aufkocht. Diese beiden Eingriffe zeigen, daß in *Pisum sativum* bzw. dem wäßrigen Erbsenauszug ein wachstumshemmender Stoff enthalten ist, der sich durch Kohle eliminieren und durch Natronlauge zerstören läßt.

Nun ist *Pisum sativum* erfahrungsgemäß eine jener Pflanzen, die sich am wenigsten mit sich selbst vertragen, das heißt ein von ihr bestelltes Feld wird sehr rasch erbsenmüde.

Was liegt näher als die Schlußfolgerung, daß die Erbse durch Ausscheidungen aus der Wurzel und besonders durch abgestorbene Wurzeln Stoffe in den Boden bringt, die ganz bestimmte Organismen verdrängen? Vielleicht können wir in der Schlußfolgerung so weit gehen und sagen, die Verdrängung bestimmter Organismengruppen im Boden ist das sichtbare Zeichen jener Bodenvergiftung, die der Pflanze selbst zum Verhängnis wird. So gesehen wäre Bodenmüdigkeit weiter nichts als eine unmittelbare Selbstvergiftung, eine Überlegung, die sich wohl mit der Tatsache der Unverträglichkeit arteigenen Eiweißes zwangslässig in einen Rahmen fügen läßt.

Diese Gedankengänge würden uns allerdings zur Lösung des Müdigkeitsproblems ein für allemal eine zweckmäßige Fruchtfolge vorschreiben als den sichersten Weg, einen Kulturboden sowohl biologisch wie auch biochemisch gesund zu erhalten.

Abschließend möchte ich kurz noch einmal auf die spezifisch für die Gattung *Saccharomyces* wachstumshemmende Wirkung von *Pisum sativum* eingehen. Würde *Pisum sativum* auf uns Menschen ebenso einwirken wie auf die Hefe, dann würden wir die Erbse schlechthin als giftig bezeichnen. Da sie aber „nur“ für die Hefe giftig ist, denkt der Mensch nicht daran. Diese anthropomorphe Betrachtungsweise ist einseitig und biologisch gedacht nicht einwandfrei. Zugleich erkennen wir, daß es im Haushalt der Natur weder quantitativ noch qualitativ ein absolutes Gift gibt, was auch ganz und gar in die oben geschilderte Auffassung des Fragenkomplexes über Bodenmüdigkeit sich einfügt.

Deshalb faßt F. Boas (5—13) alle Körper, die in der organischen Natur sowohl im normalen wie pathologischen Stoffwechsel eine regulierende bzw. störende Rolle spielen, gleichgültig in welchem Lebenskreis, ob pflanzlich oder tierisch-menschlich, unter dem Namen Wirkstoffe zusammen.

Es scheint mir nicht überflüssig, wie A. Köckemann (14) in einer soeben erschienenen Arbeit, ebenfalls darauf hinzuweisen, daß wir mit dem Begriff „Hormon“ etwas vorsichtiger umgehen sollten und nicht, wie amerikanische Forscher es zu tun belieben, gar Äthylen als Hormon respektieren. Dies möchte ich geradezu als wissenschaftlichen Unfug bezeichnen. Äthylen ist wie zahlreiche andere, den Lebensprozeß beeinflussende Körper, ein Wirkstoff. Diese Bezeichnung gibt keine gesonderte Zugehörigkeit an; sie ist in ihrer Umfassung nach Begriff und Wirkung total.

In dieser erweiterten Darstellung können wir Bodenmüdigkeit schließlich als die Folge ganz bestimmter Wirkstoffeinflüsse definieren, hervorgerufen durch ebenso bestimmte Pflanzen.

### Literatur.

- 1 Hiltner, L. Arbeiten der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft 1904.
  - 2 Vogel, F. und Weber, E. Die Gartenbauwissenschaft 5, 508, 1931.
  - 3 Merkenschlager, F. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz 13, 296, 1936.
  - 4 Gistl, R. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz 13, 270, 1936.
  - 5 Boas, F. und Claus, G. Falkes Jahrbuch für Weidewirtschaft 8, 84, 1925.
  - 6 Boas, F. Biochemische Zeitschrift 176, 349, 1926.
  - 7 Boas, F. und Diener, H. O. Zeitschrift für Pflanzenernährung 8, 164, 1927.
  - 8 Boas, F. Landw. Jahrbücher für Bayern 1932.
  - 9 Boas, F. und Bornebusch, G. Landw. Jahrbücher für Bayern 1932.
  - 10 Boas, F. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 52, 272, 1934.
  - 11 Boas, F. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 52, 129, 1934.
  - 12 Boas, F. und Steude, R. Biochemische Zeitschrift 279, 418, 1935.
  - 13 Boas, F. und Steude, R. Angewandte Botanik 18, 16, 1936.
  - 14 Köckemann, A. Beiheft zum Botanischen Zentralblatt 40, 191, 1936, Abtlg. A.
-

Aus der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig-Gliesmarode.

## Pilzliche Parasiten der Getreideroste.

Von  
K. Hassebrauk.

Als pilzliche Parasiten auf den Uredosporenlagern der Getreideroste waren bisher nur *Olpidium uredinis* Lagh. und *Darluca filum* Bivon. bekannt. In neuerer Zeit berichten dann Levine, Granowski und Leach<sup>1)</sup> von einem auf den Uredosori von *Puccinia graminis* parasitierenden Pilze, dessen Identität aber noch nicht ermittelt werden konnte. Er trat nach der Infektion mit Schwarzrostsporen auf, die vorher den Darmtraktus von Schnecken passiert hatten. Alle Getreideroste waren offenbar dagegen anfällig. Voraussetzung für das Gedeihen dieses Pilzes war hohe Luftfeuchtigkeit.

Schon seit mehreren Jahren wurde auch von uns auf *Puccinia glumarum*, die in Gewächshäusern mit sehr hoher Luftfeuchtigkeit herangezogen wurde, ein pilzlicher Parasit beobachtet, der die Weitervermehrung der befallenen Gelbroststämme erschwerte. Auf die anderen Getreideroste, die in Gewächshäusern mit minder hoher Luftfeuchtigkeit gehalten wurden, schien dieser Pilz zunächst nicht überzugehen. Erst als mit den übrigen Getreiderostarten Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung begonnen wurden und die einzelnen Stämme, Einsporlinien und physiologischen Rassen getrennt unter Glasglocken, mithin bei hoher Luftfeuchtigkeit gehalten werden mußten, machte sich zunehmend auch hier ein ähnlicher pilzlicher Befall sehr störend bemerkbar. Nach der Übertragung der von verschiedenen Rostarten gewonnenen Organismen auf Malzagar-nährböden zeigte es sich, daß es sich nicht stets um den gleichen Parasiten handelt, sondern daß unsere Rostkulturen von wenigstens 5 verschiedenen Pilzen befallen wurden.

Bei der Bestimmung der bisher isolierten Rostparasiten wurde ich von Herrn Oberregierungsrat Dr. Wollenweber liebenswürdigerweise weitestgehend unterstützt. Ich spreche ihm dafür auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

<sup>1)</sup> New parasites of cereal rusts. Phytopath. 1932. 22, 17.

Einwandfrei identifizieren ließen sich *Verticillium niveostratosum* Lind., das von *Puccinia graminis-tritici*, *Puccinia glumarum* und *Puccinia triticina* gewonnen wurde, sowie *Cephalosporium acremonium* Corda, das auf *Puccinia graminis avenae* parasitierte.

Fraglich bleibt zunächst die Identität folgender Parasiten:

Auf *Puccinia coronifera* fand sich ein Wirtspilz, der sich mit den bekannten *Verticillium*-Arten nicht deckt. Nach einer Mitteilung von Herrn Dr. Wollenweber bestehen aber keine wesentlichen Widersprüche zwischen dem Pilz und *Acrostalagmus fungicola* Preuß, wenn schon für diesen keine Größenangaben der Sporen vorliegen. Da späterhin auch die Gattung *Acrostalagmus* mit *Verticillium* zu vereinigen sein wird, könnte man den auf *Puccinia coronifera* gefundenen Parasiten für den Fall einer Identität als *Verticillium fungicola* (Pr.) nov. comb. bezeichnen.

Gleichfalls von *Puccinia coronifera* wurde ein Pilz isoliert, der lange Konidienketten bildet. Es ist nach Herrn Dr. Wollenweber vorläufig noch fraglich, ob es sich um ein *Fusidium* (*F. hormisci* Corda?, *F. sphæriae-chionae* Cda.?), *Spicaria* sp. oder *Cylindrium* sp. handelt.

Auf *Puccinia glumarum* und *Puccinia simplex* fand sich schließlich noch ein Wirtspilz, der gleichfalls schneeweisse Rasen bildet, die aber etwas kompakter und filziger als bei *Verticillium niveostratosum* sind. Neben runden Konidien (3,6  $\mu$ ) finden sich sehr häufig solche, die an beiden Enden stark verjüngt sind.

Um festzustellen, ob die beobachteten Organismen auf andere Getreiderostarten übergehen können, von denen sie zunächst nicht isoliert waren, wurden Uredosporenaufschwemmungen von pilzfreien Roststämmen mit Konidien der einzelnen Parasiten versetzt und mit diesem Gemisch in der üblichen Weise Primärblätter von Keimpflanzen rostanfälliger Getreidesorten beimpft. Zur Kontrolle wurden Uredosporenaufschwemmungen ohne Konidien sowie Konidienaufschwemmungen ohne Uredosporen als Infektionsmaterial verwendet. Sämtliche Versuchstöpfe standen zunächst zwei Tage unter Glasglocken auf feuchtem Torf. Sodann wurde die eine Hälfte jeder Versuchsreihe unbedeckt im Gewächshaus aufgestellt; die andere blieb während der ganzen Versuchsdauer bedeckt. Auf den Pflanzen, die nur vorübergehend bei hoher Luftfeuchtigkeit gehalten waren, verlief die Rostinfektion in jedem Fall ohne Störung; die Parasiten kamen auf dem Rost niemals zur Entwicklung. Auf den Versuchspflanzen dagegen, die dauernd in einer gesättigten Atmosphäre standen, wurden folgende Infektionsbilder beobachtet:

Soweit der Rostpilz bei einem Befall mit *Verticillium niveostratosum* überhaupt noch fruktifiziert, sind die meisten Uredolager mit einem weißen, häufig etwas krustig aussehenden Myzel bedeckt. Die Sporen aus diesen Sori sind nicht mehr infektionstüchtig. *Verticillium niveostratosum* befiel

stark *Puccinia graminis*, *Puccinia triticina*, *Puccinia glumarum*, *Puccinia coronifera* und *Puccinia simplex*. Geringer war der Befall auf *Puccinia dispersa*.

*Cephalosporium acremonium* bildet wie in künstlicher Kultur ein sehr üppiges lockeres Myzel aus. Die ganze Infektionszone ist häufig mehrere Millimeter dick damit überzogen. Der Rostpilz erzeugt in den meisten Fällen überhaupt keine Uredosporen; statt dessen finden sich aber Teleutosporen (*Puccinia simplex*, *Puccinia coronifera*) oder melanistische Flecke in der Größe von Sporenlagern. Befallen wurden alle geprüften Getreideroste. Nur auf *Puccinia dispersa* war keine Myzelbildung festzustellen.

Das durch den als *Verticillium fungicola* bezeichneten Parasiten hervorgerufene Befallsbild ist ähnlich wie bei *Verticillium niveostratosum*. Das Myzel ist aber meist noch etwas üppiger und nicht nur auf die einzelnen Uredolager beschränkt. Befallen wurden alle Getreiderostarten. Am geringsten war wieder der Befall von *Puccinia dispersa*.

Die beiden übrigen, noch nicht identifizierten Pilze rufen gleichfalls ein Krankheitsbild hervor, wie es für den Befall mit *Verticillium niveostratosum* beschrieben ist. Doch ist die Myzelbildung im allgemeinen deutlich spärlicher. Auf den Uredosporenlagern aller Getreiderostarten wurde Myzel beobachtet. Nur auf *Puccinia dispersa* konnte in wiederholten Versuchen mit beiden Pilzen fast überhaupt kein Befall festgestellt werden.

Gesunde Blätter können von den beschriebenen Pilzen offenbar nicht befallen werden. Die Infektionen mit Konidienaufschwemmungen verliefen in jedem Fall ergebnislos. Auch bei gleichzeitigem Rostbefall scheint der Parasitismus auf den Rostpilz beschränkt zu sein und nicht auf das Blatt überzugreifen.

In einer weiteren Versuchsreihe konnte der Parasitismus von *Verticillium niveostratosum* auch auf den Uredosporen anderer Rostarten nachgewiesen werden. In Kulturschälchen wurde destilliertes Wasser gefüllt und dieses mit Sporen von *Puccinia graminis*, *Puccinia suaveolens* (Pers.) Rostr., *Puccinia symphyti-bromorum* F. Müll., *Puccinia taraxaci* (Rebent.) Plowr. und *Puccinia asparagi* DC. bestäubt. Jedes Schälchen wurde mit einer Platinöse einer Reinkultur von *Verticillium niveostratosum* beimpft. Während der Wirtspilz auf reinem destilliertem Wasser so gut wie keine Weiterentwicklung zeigte, konnte auf den Schalen mit Rostsporen schon makroskopisch eine Myzelbildung beobachtet werden. Bei der mikroskopischen Prüfung zeigte sich reichliche Fruktifikation. Die Hyphen schmiegen sich den Sporen dicht an.

Für eine biologische Bekämpfung der Getreiderostpilze kommen die aufgefundenen Rostparasiten nicht in Frage, da sie nachweislich nur bei sehr hoher Luftfeuchtigkeit auf den Uredolagern gedeihen können. Ihnen ist aber bei der Arbeit mit Getreiderosten in Gewächshäusern eine nicht zu unterschätzende Bedeutung beizumessen, da sie bei starkem Auftreten

unter günstigen Bedingungen die Vermehrung der Roste gefährden und kaum wieder zu beseitigen sind, sobald sie sich erstmal eingebürgert haben. Die Schädigungen sind nach unseren Beobachtungen während der dunklen Wintermonate, wo die Fruktifikationszeit der Rostpilze wesentlich verlängert ist, besonders stark. Eine direkte Bekämpfungsmöglichkeit der Rostparasiten dürfte es nicht geben. Bewährt hat sich das Anlüften der zur Bedeckung der rostinfizierten Pflanzen dienenden Glasglocken, wenn die ersten 48 Stunden nach der Beimpfung verstrichen sind. Doch bietet dies Verfahren bei *Puccinia glumarum* Nachteile, da diese Rostart ja auch während der Fruktifikationszeit hohe Luftfeuchtigkeit beansprucht.

# Der Einfluß der Verwundung auf die Photosynthese.

Von

Hans Franz Neubauer, Wördern.

Mit 6 Textabbildungen.

## Einleitung.

Wenn wir über den Einfluß der Verwundung schlechthin auf die Photosynthese sprechen, so müssen wir zwei Arten von Verwundung unterscheiden: diejenige, durch die die lebende Substanz einen bloßen Reiz empfängt, und die, welche außerdem noch mechanische Folgen nach sich zieht. Vielfach sind beiderlei Wirkungen nicht zu trennen, und eine Unterscheidung derselben wurde von älteren Autoren kaum angestrebt, da es galt nachzuweisen, ob Verwundung die Assimilationsintensität überhaupt beeinflusse oder schädige. Diese Frage war für die Methodik von Untersuchungen über die Kohlensäureassimilation von grundlegender Wichtigkeit und wurde sehr viel diskutiert, da von ihr die Möglichkeit, von den im Versuche gesehenen Verhältnissen auf das tatsächliche Verhalten am natürlichen Standorte zu schließen, völlig abhängig erscheint.

Zu ökologischen Zwecken ist heute die beste und verbreitetste Methode der Assimilationsbestimmung die der Absorption der Luftkohlensäure in Barytlauge und nachfolgende Titration mit Salz- oder Oxalsäure (1, 2). Es muß hierbei einerseits der Kohlensäuregehalt der Luft bestimmt werden, andererseits der Kohlensäuregehalt des Luftstromes, welcher über ein in einer Assimulationskammer befindliches Blatt geleitet worden war. Der Unterschied dieser beiden Bestimmungen ergibt die vom Blatte aufgenommene Kohlensäuremenge direkt, vorausgesetzt, daß in beiden Versuchen eine gleiche Luftmenge verwendet worden war. Der Umfang sowohl wie die Gebrechlichkeit der komplizierten Apparatur macht Arbeiten im Freien nahezu unmöglich, und es war daher, besonders als die Apparate noch nicht so weit ausgebaut waren wie heute, notwendig, das zu untersuchende Blatt ins Laboratorium zu bringen, wo der Apparat geschützt und fix montiert ist. Mit der sich daraus ergebenden Frage der Beeinflussung der Assimilationsintensität durch das Abtrennen des Blattes vom Mutterstocke beschäftigte sich besonders Boysen-Jensen (1), der auf Grund zahlreicher Versuche zu dem Schluß kam, daß sich das Verhalten abgetrennter und nicht abgetrennter Blätter hinsichtlich ihrer Assimilation nicht nachweisbar unterscheide, also diese Verwundung augenscheinlich ohne Wirkung sei.

Schon früher aber, 1921, hatte Kostytschew (7) in einer Arbeit die Wirkung des Wundreizes studiert. Zu diesem Zwecke hatte er die Fläche seiner Versuchsblätter durch Nadelstiche zerstochen. Verfasser beobachtete gegenüber Kontrollen eine schwache Hemmung der Kohlensäureersetzung. Lubimenko und Stscheglova (11) aber konnten 1932 dieses Resultat korrigieren, indem sie berechneten, daß die Kostytschew'schen Ver-

suehe diese Hemmung nicht zeigen würden, wenn der Berechnung eine kleinere Blattfläche zu Grunde gelegt würde, was aber notwendig ist, da ja durch die Stiche ein bestimmtes Blattareal zerstört oder ganz entfernt ist. Weiter fand Lubimenko, daß sogleich nach der Reizung eine Änderung im Verhalten kaum zu beobachten ist, daß aber nach einer Anzahl von Tagen die gereizten Blätter deutlich intensiver assimilieren als die unverwundeten Kontrollblätter und daß nach Erreichen eines größten Unterschiedes diese durch Wundreiz bedingte Steigerung der Photosynthese wieder ausklingt. Verfasser hatte Blätter durch einen ganzen Monat hindurch beobachtet. Das Ergebnis einzelner solcher Versuche kann aber durch Wassermangel infolge starker Transpiration aus der Wundpartie und damit verbundenem Spaltenverschluß abgeändert werden, weshalb diese Versuche gewissenhaftester Ausführung und genauester Beobachtung bedürfen.

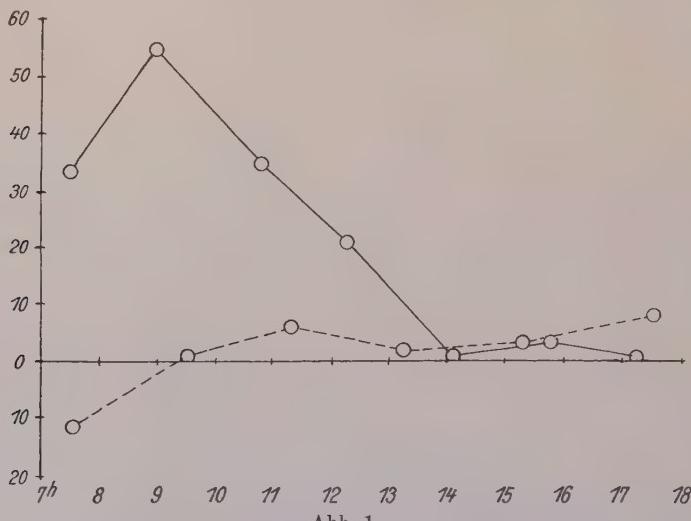


Abb. 1.  
Weißbuche, 16. August 1932.

In allen Abbildungen ist die Assimulations-Kurve des Kontrollblattes ausgezogen,  
die des Blattes am verwundeten Zweige gestrichelt.

Milligramm CO<sub>2</sub> assimiliert von einem Gramm frischer Blattmasse in einer Stunde.

Ssaposchnikow (14) untersuchte 1890, wie viele Kohlehydrate in den Blättern angehäuft werden könnten, und er äußerte die Ansicht, daß eine Fülle von Kohlehydraten in den Blattzellen die weitere Bildung von solchen verhindern kann. In der folgenden Zeit wurde wiederholt und auf verschiedenem Wege eine künstliche Überfüllung der Blätter mit Kohlehydraten zu erreichen versucht; Kurssanow (10) versuchte dies mit Süßwasseralgen (*Cladophora*), welche er in Zuckerlösung einlegte, und fand, daß diese weniger intensiv assimilierten als in reinem Wasser gehaltene Kontrollpflanzen. Ferner schnitt er die Rinde eines Apfelzweiges unter dem zu untersuchenden Blatte durch, wodurch die Ableitung der Kohlehydrate aus demselben gehemmt wurde, und er beobachtete gleicherweise offenbar zufolge der so erreichten Anhäufung von Kohlehydraten eine Herabsetzung der Assimilationsintensität im Verlaufe des Tages im Vergleiche zu Kontrollversuchen.

### Eigene Versuche.

Auf Verhältnisse, ähnlich den zuletzt geschilderten, wurde Verfasser schon im Sommer 1932 aufmerksam, als er Weißbuche prüfte (Abb. 1).

Damals war bei der Untersuchung des Assimilationsverlaufes während des Tages am natürlichen Standorte manchmal der Zweig, in der Regel ein diesjähriger Langtrieb, über dem zum Versuche bestimmten Blatte abgeschnitten worden, um dasselbe besser in die Assimulationskammer einbringen zu können. Das Blatt schied morgens Kohlensäure aus, erholte sich aber bald, doch blieb die Leistung während des ganzen Tages niedrig; während das Kontrollblatt als größte Assimilationsintensität eine Kohlensäureaufnahme von 54 mg pro Stunde, berechnet auf 1 g frischer Blattmasse zeigte, erreichte das Versuchsblatt seine größte Stundenleistung von nur 7,3 mg/h und erst gegen Abend. Drei weitere Versuche zeigten ungefähr dasselbe. Insgesamt betrug die Ausbeute des ganzen Tages bei

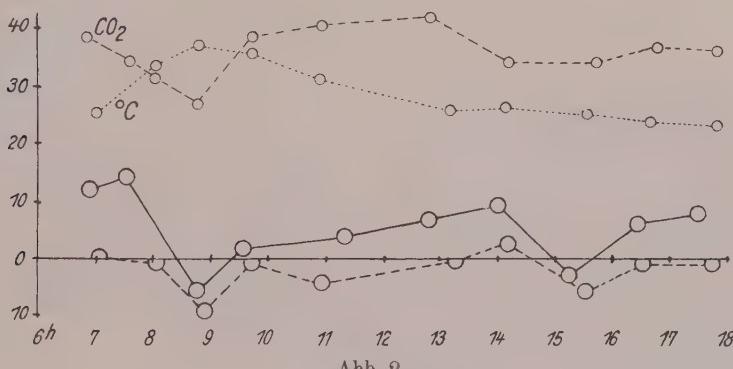


Abb. 2.  
Weißbuche, 11. Juli 1933.

den Versuchsblättern nur etwa  $1/10$  bis  $1/20$  von der der Vergleichsblätter. — Bei Buche ist der Unterschied zwischen der Leistung des Blattes am gekappten Zweige und am unverletzten noch größer. Es betrug da die Assimilationsintensität eines Vergleichsblattes im Tagesmittel 34,75 mg/h mit einer größten Stundenleistung von 78,0 mg CO<sub>2</sub>-Aufnahme um 9 Uhr morgens. Das entsprechende Versuchsblatt am zurückgeschnittenen Zweige zeigte eine größte Leistung von 14,2 mg um 14 Uhr, und die berechnete Durchschnittsleistung pro Stunde betrug 0,85 mg, das ist zirka 2,5 % oder  $1/40$  von der Durchschnittsleistung des Vergleichsblattes. Der an einem am gekappten Zweige untersuchten Blatte beobachtete größte Wert der CO<sub>2</sub>-Aufnahme blieb unter der mittleren Tagesleistung des zugehörigen Vergleichsblattes.

Die vorstehend besprochenen Versuche wurden gegen Ende einer anhaltenden Schönwetterperiode ausgeführt, welche seit 28. Juli andauerte und nur vom 2. bis 6. August durch Regenwetter unterbrochen war. Der Versuchstag also war der achte Schönwettertag. Wie Verfasser an anderer Stelle (13) zeigte, ist der Tagesgang der Photosynthese am Ende lang anhaltender Schönwetterperioden gegenüber dem an trüben Tagen vor allem durch das Fehlen der CO<sub>2</sub>-Ausscheidungen und große Assimilationsintensitäten zu einzelnen Tagesstunden ausgezeichnet, wobei das Assimilationsmaximum in die Vor-

mittagsstunden fällt, und wurde als „Schönwettertypus der Photosynthese“ von einem „Schlechtwettertypus“ unterschieden, welcher durch mehr oder weniger häufige  $\text{CO}_2$ -Ausscheidungen am Tage und geringen Stoffgewinn kenntlich ist. Diese Verhältnisse seien hier bloß angedeutet.

Ein anderer Versuch an Weißbuchen ist in Abb. 2 dargestellt. Die Witterung am Versuchstage war nicht besonders schön, und der Tag folgte auf mehrere trübe Tage. Die Kurven der beiden verglichenen Blätter verlaufen annähernd parallel. Das Blatt am gekappten Zweige zeigt bloß nach 14 Uhr Stoffgewinn, alle anderen Versuche weisen mehr oder minder große Stoffverluste des Blattes auf. Das Kontrollblatt hingegen hatte bloß zweimal des Tages  $\text{CO}_2$ -Ausscheidungen, zu welchen Stunden das Versuchsblatt ebenfalls, doch entsprechend größere Stoffverluste erkennen ließ. Die Berechnung ergab für das Versuchsblatt — 2,19 mg/h Kohlendioxydabgabe als durchschnittliche Leistung. Das Kontrollblatt dagegen assimilierte im Mittel 5,06 mg  $\text{CO}_2$  pro Stunde<sup>1)</sup>.

#### Hemmt die Verwundung zu den verschiedenen Jahreszeiten?

Die weiteren Versuche gingen nun nach zwei Richtungen, und zwar sollten sie einerseits die Frage beantworten, ob diese Hemmung der  $\text{CO}_2$ -Aufnahme nach Abschneiden des Zweiges über dem zum Versuche bestimmten Blatte zu allen Jahreszeiten nachweisbar sei, und zweitens, welche Art der Verletzung des Blattes oder seiner Umgebung am wirksamsten wäre. Schon im Herbste 1932 versuchte der Verfasser die oben besprochenen Verhältnisse an Eichen, Ulmen und japanischen Quitten

Tabelle 1.  
Assimilationsintensitäten von Blättern an zurückgeschnittenen Zweigen  
und von Kontrollblättern.  
Mittelwerte aus mehreren Versuchen.

	Verwundet	Kontrolle
	mg	mg
Ulme . . . . .	3,64	3,4
Eiche . . . . .	3,7	1,8
Japanische Quitte . . . . .	1,62	1,81

nachzuweisen, jedoch erfolglos. Die Blätter am zurückgeschnittenen Zweige zeigten gegenüber den Kontrollblättern fast keine Veränderungen in ihrem Kohlehydrathaushalte (Tabelle 1). In dieser Tabelle sind die Assimilationsintensitäten für eine Stunde und ein Gramm Blattfrischgewicht als mittlere Intensitäten aus allen Versuchen (je drei bis fünf Kurven) berechnet, angegeben.

Um nun zu sehen, ob am Ende bloß Buche und Weißbuche nach Verwundung ihre Assimilation einschränkten, oder ob im Herbste sich

<sup>1)</sup> Für diesen Fall ist eine Angabe von (Minus-)Prozenten nicht gut möglich.

der Einfluß der Verwundung nicht mehr geltend machte, waren weitere Versuche erforderlich. Die meisten wurden an einem Haselstrauche im väterlichen Garten ausgeführt, dazwischen aber wurden im Walde auch andere Pflanzenarten untersucht. — Am 2. Juni wurde japanische Quitte geprüft. Die Kontrollblätter zeigten als mittlere Assimilationsintensität 0,82 mg CO<sub>2</sub>-Aufnahme pro eine Stunde gegenüber 0,75 mg/h bei Blättern an zurückgeschnittenen Zweigen. Die Unterschiede sind hier also sehr gering; die Kurven des Tagesverlaufes der Photosynthese aber sind sehr stark schwankend, zum Beispiel sind die Extremwerte einer solchen Kurve — 8,2 mg/h CO<sub>2</sub>-Ausscheidung und 11,8 mg/h Aufnahme. Das ist für jugendliche Blätter das typische Verhalten und tritt vorwiegend im Früh-

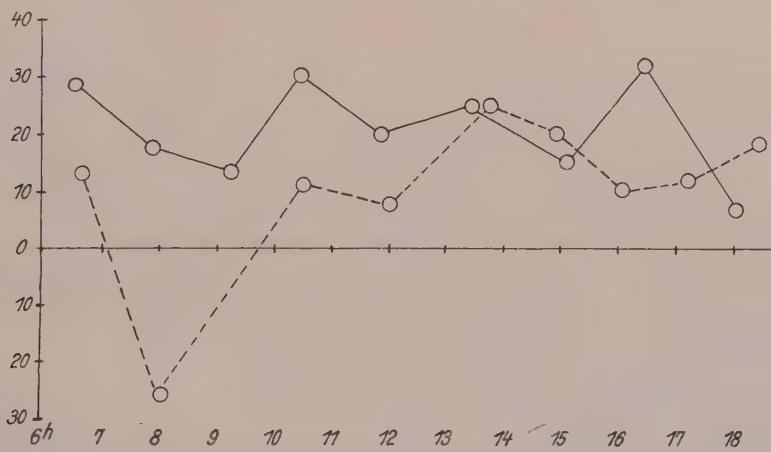


Abb. 3.  
Haselstrauch, 2. Juni 1933.

sommer in Erscheinung (12). — Ein Batt vom Haselstrauß, über welchem ebenso wie früher der übrige Trieb abgeschnitten worden war, ergab als mittlere Tages-Assimilationsintensität, aus neun Versuchen errechnet, 21,37 mg/h. Hingegen nahm das Vergleichsblatt am unverletzten Zweige im Mittel (zehn Versuche) bloß 14,64 mg/h CO<sub>2</sub> auf. Das ist um beinahe ein Drittel weniger. Die Verletzung war hier offensichtlich ohne hemmende Wirkung auf die Assimilationsintensität geblieben (Abb. 3). Eine andere Versuchsserie aus derselben Zeit, 6. Juni 1933, von japanischer Quitte läßt die hemmende Wirkung des Zurückschneidens (Abb. 4) bereits besser erkennen. Der Versuchstag war klar, heiter und warm, und die an demselben gewonnene Kurve des unverletzten Kontrollblattes ist als dem „Schönwettertypus der Photosynthese“ (12) zugehörig zu betrachten. Im Mittel nahm dieses Blatt 11,18 mg CO<sub>2</sub> auf. Das Versuchsblatt am zurückgeschnittenen Zweige assimilierte durchschnittlich 5,04 mg/h CO<sub>2</sub>, also bloß die Hälfte. Die Form dieser Kurve ähnelt einem „Trübwettertypus“

Die Zweige und Blätter der japanischen Quitte waren in ihrem Entwicklungszustande weiter vorgeschritten als die vom Haselstrauch. — Eine weitere Haselserie stammte vom 1. August (Abb. 5). Der Tag war ständig mehr oder weniger bewölkt, und vor 13 Uhr fiel ein Platzregen. Dieser trübe Tag brachte im allgemeinen geringe Assimilationsintensitäten mit sich: Die mittlere Assimilationsintensität des Vergleichsblattes betrug

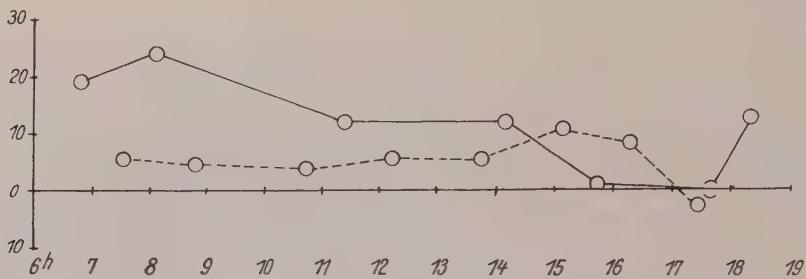


Abb. 4.  
Japanische Quitte, 6. Juni 1933.

3,86 mg/h, während das Blatt am zurückgeschnittenen Zweige bloß 0,284 mg CO<sub>2</sub> im Durchschnitte aufnahm, das ist bloß 7,4 %. — Daneben wurden noch einige Male Buche und Weißbuche untersucht, welche etwa ähnliche Verhältnisse ergaben wie die in Abb. 2 dargestellten. Häufig war ein Überwiegen der CO<sub>2</sub>-Abgaben an den Blättern an den verletzten Zweigen wahrnehmbar; daraus ergab sich dann eine leicht negative Tagesbilanz des Kohlehydrathaushaltes bzw. negative mittlere Assimilationsintensität des Blattes.

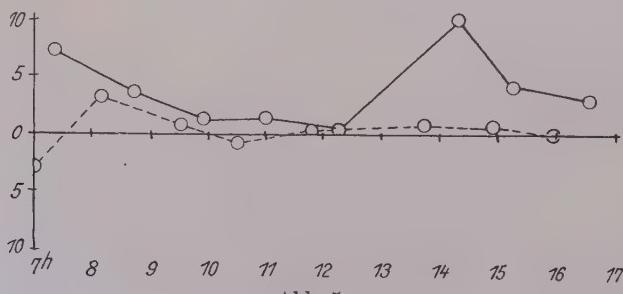


Abb. 5.  
Haselstrauch, 1. August.

Versuche aus dem Herbste ergaben ein ganz ähnliches Bild wie die aus dem Frühsommer, bloß daß die Assimilation nie jene großen Intensitäten erreicht (vgl. Tabelle 1). Die Versuche vom 28. September, einem etwas trüben Tage auf ebensolche folgend, ergaben eine ungünstigere Bilanz für die Blätter an unverletzten Zweigen. Am 6. Oktober während klaren, kühlen Herbstwetters, erreichte die Photosynthese ein klein wenig

größere Intensitäten. Es assimilierte (Abb. 6) ein Blatt an einem zurückgeschnittenen Zweige im Mittel 1,08 mg CO<sub>2</sub> pro Stunde, ein Kontrollblatt 1,25 mg, d. h. die Assimilationsintensität des Versuchsblattes beträgt 86,4 % von der des Vergleichsblattes. Weitere Versuche an Weide und Ulme ergaben ebenfalls nur geringe Unterschiede zwischen dem Blatte, über welchem der Zweig abgeschnitten war, und dem Blatte am unverletzten Zweige.

Zusammenfassend ersehen wir, daß Blätter, über welchen der übrige Zweig weggeschnitten ist, im Hochsommer etwa nur 2 bis 10 % der Intensität der Kohlensäureassimilation von Blättern an unverletzten Zweigen zeigen, sofern die Zweige noch wachsende Langtriebe waren. Im Frühsommer wirkt sich das Abschneiden nicht so kraß aus, die Hemmung

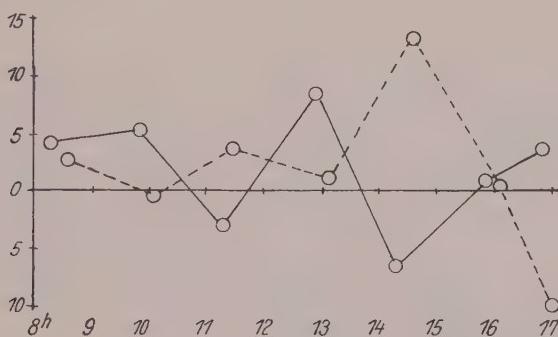


Abb. 6.  
Haselstrauch, 6. Oktober 1934.

beträgt da höchstens bis 50 %. Im Herbst ist Ähnliches zu beobachten; die Leistung des Blattes am gekappten Zweige beträgt gegen Ende der Vegetationsperiode 85 bis 100 % von der des Vergleichsblattes bei allerdings allgemein schwacher Leistung. — Im Frühling sowohl wie im Herbst kann mitunter beobachtet werden, daß die Leistung des Blattes am verwundeten Zweige die des Kontrollblattes sogar ein wenig übertrifft; in diesen Zeiten ist die Unterbindung der Ableitung der Assimilate durch die beschriebene Art der Verletzung augenscheinlich ohne nennenswerten Einfluß auf die Photosynthese des so isolierten Blattes.

#### Der Einfluß verschiedener Verwundungsarten.

Zu Anfang August 1933 wurden an einzelnen Haselblättern verschiedene Arten von Verwundungen angebracht, um zu sehen, welche Verwundung am wirksamsten wäre. Es wurde einmal die Rinde des Zweiges über bzw. über und unter der Ansatzstelle des Blattes durchschnitten (geringelt), in einem anderen Versuche wurde die Blattfläche zwischen den Hauptleitbündeln mit einem scharfen Messer durchschnitten, ein anderes

Mal wurde das Hauptleitbündel des Blattes in der Nähe des Blattstieltes durchtrennt, in einem Falle auch ein ca. 2 cm langes Stück des Hauptgefäßstranges des Blattes entfernt. Dadurch ist die Leitung der Assimilate im Bastteile des Zweiges und die Ableitung derselben aus dem Blatte ganz oder teilweise unterbunden; das Zerschlitzen der Blattfläche aber hindert die Leitung der gelösten Kohlehydrate wenig, dagegen kann sich hier die reine Reizwirkung zeigen. Tabelle 2 gibt Aufschluß über das Ergebnis dieser Versuchsserie. Die größte Hemmung zeigt jenes Blatt, an dessen Ansatzstelle der Zweig geringelt ist. Die beiden letzten Versuche weisen eine geringe Hemmung auf. Das liegt daran, daß man beim Durchtrennen des Hauptblattgefäßes die Nebenstränge schonen muß (Wasser-

Tabelle 2.

**Wirkung verschiedener Art der Verwundung auf Blätter vom Haselstrang.**

Versuch 61: Zweig über und unter dem Versuchsblatte geringelt. Versuch 62: Blattfläche zwischen den Hauptleitbündeln durchschnitten. Versuch 63: Kontrolle. Versuch 64: Hauptleitbündel durchschnitten. Versuch 65: Zirka 2 cm des Hauptleitbündels des Blattes entfernt.

Erste Bestimmung 7 Uhr, letzte 16,30 Uhr am 1. August 1935.

	Versuch 61	Versuch 62	Versuch 63	Versuch 64	Versuch 65
	— 2,89 3,18 0,78 — 0,58 0,41 0,64 0,73 0,00	3,65 3,22 0,00 0,19 3,20 1,37 2,13 1,74	7,03 3,62 1,24 1,29 0,43 9,90 4,22 2,92	3,72 1,18 0,00 1,99 — 0,41 3,16 2,64	4,34 2,45 1,39 2,07 — 1,45 1,08 1,34
Summe	2,27	15,50	30,65	12,28	11,21
Mittel . . .	0,284	1,94	3,83	1,75	1,60
Gesamtausbeute :	3,41	23,28	45,98	21,00	19,20
In Prozenten . .	7,42	50,8	100,00	45,7	41,7

versorgung), wodurch aber nicht alle Ableitungsbahnen unterbunden sind. — Das Blatt, dessen Fläche bloß zwischen den großen Gefäßen zerschnitten wurde, setzt aber auch seine Photosynthese auf etwa die Hälfte herab. Es weist keine  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung auf.

Eine andere Serie von Versuchen an Weißbuchenblättern gibt Tabelle 3 wieder. Sie zeigt, daß die Blätter, diesmal am zurückgeschnittenen Zweige, am ersten Tage nach der Verletzung ihre Assimilationsintensität sehr stark herabsetzen. Es überwiegen die Kohlendioxyd-Ausscheidungen, wodurch die Blätter beträchtliche Stoffverluste erleiden. Am zweiten und vierten der folgenden Tage haben sich die Versuchsblätter etwas erholt und erreichen schon beinahe die halbe Ausbeute wie das Vergleichsblatt. Die Einschränkung der  $\text{CO}_2$ -Aufnahme des zwischen den Leitbündeln zerschnittenen Blattes ist geringer, jedoch am zweiten Tage nach der Ver-

wundung etwas größer. Der Versuchstag aber war klar und heiter, und er brachte im Allgemeinen eine größere Steigerung der Assimilation mit sich. Allem Anschein nach aber waren die Schnitte in der Blattfläche noch nicht genügend geschlossen, und wohl damit zusammenhängend mag die Leistung des Blattes nicht in demselben Maße zugenommen haben wie die des Vergleichsblattes.

Ein Versuch an Weißbuchen sei noch erwähnt. Es wurde diesmal die Blattfläche durch zahlreiche Nadelstiche durchlöchert, einige Stiche wurden auch im Blattstiele, in den großen Gefäßen des Blattes, dann in Rinde und Holzkörper des Zweiges um die Blattansatzstelle herum angebracht.

Tabelle 3.

**Assimilation verwundeter Weißbuchenblätter, in zweitägigen Abständen untersucht.** Mittelwerte je aus je 6 bis 9 Einzelversuchen während des ganzen Tages berechnet und in Prozenten der Leistung des unverwundeten Vergleichsblattes ausgedrückt.

Versuchsblatt 1: Fläche zwischen den Blattgefäßern zerschnitten. Versuchsblatt 2: Zweig über dem Versuchsblatte am 7. Juli um 17 Uhr weggeschnitten. Versuchsblatt 3: Desgleichen am 8. Juli um 7 Uhr früh. Versuchsblatt 4: Desgleichen am 10. Juli um 7 Uhr früh.

		Kontrolle	Versuchsblatt			
			1	2	3	4
8. Juli 1935	Mittel mg/h In Prozenten	1,2 100,00	0,29 24,00	— 2,14 —	— 14,05 —	
10. Juli 1935	Mittel mg/h In Prozenten	7,29 100,00	1,57 21,6	5,62 77,00	8,65 118,2	1,43 19,7
12. Juli 1935	Mittel mg/h In Prozenten	12,3 100,00	8,6 70,00	4,18 34,2	6,78 55,5	2,21 18,00

Die Kurve des so verletzten Blattes weist größere Schwankungen auf als die des Vergleichsblattes. Sie betragen 15,88 mg/h CO<sub>2</sub>-Aufnahme und — 10,2 mg/h-Ausscheidung gegenüber 2,28 und — 1,0 mg des Vergleichsblattes. Im Durchschnitte zeigte das Blatt keine Hemmung der Photosynthese, im Gegenteil war die Tagesausbeute des durch Stiche verletzten Blattes fast doppelt so groß wie die des unverletzten Blattes.

Zusammenfassend ist also ersichtlich, daß die größte Herabsetzung der Photosynthese eintritt, wenn die Rinde des Zweiges, an dem das Versuchsblatt sitzt, durchtrennt ist. Dadurch wird die Abwanderung der Assimilate (Zucker) im Bastteile nach dem Orte des Verbrauches, an wachsenden Langtrieben nach der Triebspitze, unterbunden. Durchschneiden der ganzen Leitbündel (Holz- und Bastteil) des Blattes setzt die Intensität der Photosynthese bloß bis etwa auf die Hälfte herab. In solchen Versuchen aber können nie alle Leitbündelstränge durchtrennt werden, da sonst das Blatt infolge Wassermangels rasch zu Grunde ginge. Blätter, deren Fläche zwischen den Gefäßern zerschnitten worden war, zeigen eine höchstens bis zur Hälfte geringere Ausbeute an Kohlehydraten. Stiche,

die vorwiegend nur Blattparenchym zerstören, zeigen meist keinen Einfluß auf die Photosynthese. Schon zwei Tage nach der Verwundung ist die Hemmung etwas geringer geworden. Sie wird es weiter. Diese Angaben gelten in erster Linie für die Hauptvegetationszeit; im Frühsommer oder im Herbst ist die Herabsetzung der Assimilationsintensität nach Zurückschneiden oder Ringeln der Zweige geringer. Zu Beginn der Vegetationszeit bleibt die Wirkung solcher Verletzungen häufig aus, ebenso ist im späteren Herbst vor Abschluß der Vegetation keinerlei Hemmung mehr festzustellen, bei allgemein schwacher Assimilationstätigkeit der Blätter.

### Diskussion.

Wir haben gesehen, daß für die Herabsetzung der Photosynthese nicht der Wundreiz als solcher verantwortlich ist. Durch den Stich oder Schnitt ins Assimilationsparenchym werden bloß einige Assimilatoren zerstört und so einfach ausgeschaltet. Die Reizung dürfte sich wohl nur auf wenige der zerstörten benachbarten Zellen erstrecken, und die Wirkung ist insgesamt nur gering. Das macht verständlich, daß Kostytschew (8) dem Wundreize eine schwach stimulierende Wirkung auf die Photosynthese zubilligte, Lubimenko und Stscheglowa (11) aber durch Berücksichtigung der zerstörten Blattmasse bzw. Blattfläche eine leichte Steigerung der Assimilation verwundeter Blätter errechneten.

Die in den geschilderten sowie in den Versuchen Kurssanow's (10) eindeutig beobachtete Herabsetzung der Photosynthese nach Verletzung ist sicherlich anders zu deuten. Die Durchtrennung der Siebelemente in der Rinde des Zweiges verhindert die Fortschaffung der Kohlehydrate aus dem Blatte. Die Folge davon muß sein, daß in den Blattzellen allmählich eine Anreicherung von Kohlehydraten eintritt. Die Überhäufung der Zellen mit Assimilaten ist wohl in erster Linie für die Herabsetzung der Photosynthese verantwortlich zu machen, sei es nun, wie Kurssanow's Versuche zeigen, eine künstliche Anreicherung durch Kultur auf Zuckerslösung oder eine solche durch Verhinderung der Ableitung. Über den Mechanismus aber der Wirkung der Kohlehydratüberfüllung der Blattzellen können wir uns noch kein Bild machen als die Zelle mit einem gefüllten Reservoir zu vergleichen, in das ein Zufluß nur möglich ist, wenn durch Abfluß auf der anderen Seite Raum hierfür frei wird. Zufluß aber ist in unserem Falle Neubildung, Assimilation.

Verfasser hat den Tagesgang der Photosynthese von Blättern direkt am Standorte untersucht und seine Erfahrungen an anderer Stelle (13) niedergelegt. Es würde zu weit führen, die Ergebnisse hier zu wiederholen, es muß aber doch erwähnt werden, daß eine Abhängigkeit der Assimilationsintensität von einem oder mehreren der bekannten Faktoren am natürlichen Standorte nicht beobachtet werden konnte. Der normale Verlauf der Photosynthese am Standorte folgt aber doch ganz deutlich bestimmten

Gesetzmäßigkeiten. Verfasser fand ganz andere Typen von Tagesassimulationskurven an warmen Schönwettertagen als wie an Tagen mit Regenwetter und unterschied hier einen „Schönwettertypus“ von einem „Schlechtwettertypus der Photosynthese“. Ferner fand er eine Abhängigkeit der Photosynthese vom Wachstum der Versuchspflanzen, einerseits so, daß Bäume gegenüber Sträuchern stärker assimilierten, andererseits aber so, daß die stärkste Assimilation für dieselbe Pflanzenart während der Periode des intensivsten Wachstums im (Früh-)Sommer beobachtet werden konnte. Auch eine Abhängigkeit der Assimilationsintensitäten vom absoluten Alterszustand sowie der Vorgeschichte der Blätter ließ sich erweisen.

Welcher der an Laboratoriumsversuchen bezüglich der Wirkung auf die Photosynthese studierten Faktoren den Gang der Photosynthese im Augenblicke bedingt und so den auf Grund der oben geschilderten Bedingungen mehr oder minder festgelegten Typ der Assimulationskurve innerhalb bestimmter Grenzen abzuändern imstande ist, läßt sich an Freilandversuchen schwer zeigen. Jedenfalls scheinen hier der  $\text{CO}_2$ -Faktor in erster Linie und ferner Veränderungen im Öffnungszustande der Stomata von nicht zu unterschätzender Bedeutung zu sein.

Die vorliegenden Versuche wollen das Verhalten von völlig intakten mit solchen Blättern, aus denen die Ableitung der Assimilate durch Ringeln des Zweiges um die Ansatzstelle des Blattes oder durch eine andere Verletzung verhindert ist, unter im übrigen unveränderten Standortsbedingungen vergleichen. Da alle klimatischen, edaphischen, atmosphärischen usw. Faktoren gleich geblieben sind, kommen diese alle nicht zur Erklärung der Minderung der Assimilationsintensität der Blätter am verwundeten Zweige in Frage. Es bleiben also bloß Faktoren, die im Blatte selbst gelegen sind. Da sich aber beide Blätter, das intakte und das am verletzten Zweige bzw. das verletzte, nur darin unterscheiden, daß dem einen die Möglichkeit genommen ist, seine photosynthetisch gebildeten Kohlehydrate fortzuschaffen, ist Verfasser in Übereinstimmung mit Kurssanow geneigt, die übermäßige Anhäufung der Assimilate im Blatte als Ursache für die Verringerung der Assimilationsintensität zu betrachten.

Auch Veränderungen in den Wasserverhältnissen im Blatte als Folge der Verwundung kämen für die Deutung des Versuchsergebnisses in Frage, speziell in den Fällen, in denen die Blattfläche zerschnitten oder das ganze Hauptleitbündel des Blattes durchtrennt worden war. Es ist sogar wahrscheinlich, daß in diesen Fällen die ungehemmte Verdunstung aus der Wunde bzw. die Unterbrechung des Wassernachsches Anlaß zu einer Einschränkung der Transpiration und zu einem Verschlusse der Spaltöffnungen gegeben hatte, welche Umstände, wie Versuche von Gaßner und Goeze (4) ergaben, mit der Photosynthese in direkter Beziehung sind und letzten Endes beide vom Eiweißgehalte abhängig erscheinen.

In der Mehrzahl der im früheren Abschnitte besprochenen Versuche wurde aber die Rinde des Zweiges um die Blattansatzstelle durch einen einfachen Schnitt mit einer Rasierklinge durchtrennt. In diesen Fällen ist wohl kaum eine Herabsetzung der Transpiration des darüber oder darunter befindlichen Blattes anzunehmen, da die wasserleitenden Holzelemente des Zweiges von der Verletzung nicht betroffen sind. Infiltrationsversuche zeigten keine Veränderungen im Öffnungszustande der Stomata an. Es sind in diesen Versuchen Veränderungen im Wasserzustand des Blattes kaum anzunehmen. Gerade aber diese Versuche ergaben die größte Herabsetzung der Assimilationsintensität. Aus diesem Grunde müssen wir doch eine Überanreicherung von Assimilaten in den Blättern als Folge der Unterbindung der Ableitung als Hauptursache für die Verminderung der Stoffproduktion solcher Blätter annehmen.

Der Wundreiz als solcher hat aber, wie Lubimenko und Stscheglowa zeigten, eine gerade entgegengesetzte Wirkung auf die Photosynthese. Diese Förderung der Assimilation als Folge des bloßen Wundreizes steht jedoch mit der hier dargelegten Hemmung der Kohlensäureaufnahme als mehr oder weniger mechanischer Folge von Verwundungen keineswegs im Widerspruch.

Die größte Hemmung der Kohlehydratbildung wurde erreicht, wenn der noch wachsende Zweig über dem Blatte, das zum Versuche bestimmt war, weggeschnitten, oder wenn der Zweig über und unter dem Blatte geringelt worden war. Das besagt uns, daß die noch wachsende Triebspitze die Kohlehydrate von allen Blättern des Zweiges zu ihrem Aufbau verwendet und daß diese wenigstens während der Hauptwachstumszeit, welche sich besonders bei Waldbäumen wohl über den größeren Teil der Vegetationszeit erstreckt, im Rindenteile hauptsächlich nach „aufwärts“ geleitet werden. Abschneiden der Triebspitze nimmt den in den am Stumpfe verbleibenden Blättern gebildeten Kohlehydraten ihre Verwendungsmöglichkeit. Sie stellen ihre Assimilation zufolge Überfüllung der Zellen ein. Wenn die Achselknospen einen Johannistrieb zu bilden beginnen, steigt auch die Leistung der Blätter wieder an.

Damit im Zusammenhange steht die Erscheinung, daß Hemmung nach Zurückschneiden ganz junger Triebe zu Beginn der Vegetation nicht zu beobachten ist. Die jungen Blätter und Zweige sind noch nicht ausgebildet, sie bedürfen zu ihrem Aufbau einer großen Kohlehydratmenge, sodaß eine hemmende Anhäufung im Blatte nicht leicht möglich ist. Das Analoge ist nach Abschluß des Wachstums der Fall; es ist ebenfalls keine Hemmung zu beobachten. Die Blätter produzieren im Herbste nur mehr so viele Kohlehydrate, als sie zum Bestreiten des eigenen Lebensprozesses bedürfen. Ableitung zwecks Speicherung kommt wohl kaum in Betracht, da die überdauernden Organe mit Speicherstoffen bereits genügend versorgt sein dürften.

**Zusammenfassung.**

1. Kurssanow fand Herabsetzung der Assimilationsintensität nach „Ringeln“, das ist Durchschneiden der Rinde des Zweiges um das Versuchsblatt. Diese Befunde werden an anderen Holzgewächsen, besonders Buche, Weißbuche, Haselstrauch, Ulme, Japanischer Quitte und anderen bestätigt.
2. Ebenso kann eine Hemmung der Kohlensäureassimilation erzielt werden nach Abschneiden des noch wachsenden Zweiges über dem Versuchsblatte.
3. Das bedeutet, daß an wachsenden Langtrieben der Bäume die größere Menge der Assimilate aus dem Blatte nicht abgeleitet, sondern hinauf in die wachsende Triebspitze transportiert wird, um beim raschen Wachsen bzw. der Anlage des (harten) Holzkörpers Verwendung zu finden.
4. Verletzung der Blattfläche durch Schnitte oder Nadelstiche wirkt sich wenig oder fast gar nicht aus, was mit den Versuchen Kostytschew's und Lubimenko's übereinstimmt. Diese Art der Verwundung, die dem in der Natur gegebenen Tier-(Raupen-) Fraße sehr ähnlich ist, scheint keine sehr großen Veränderungen in der Tätigkeit des Blattes nach sich zu ziehen.
5. Verwundung durch Ringeln oder Zurückschneiden des (wachsenden) Zweiges hemmt die assimilatorische Tätigkeit des nächst der Wundstelle sitzenden Versuchsblattes am stärksten zur Zeit des Hauptwachstums. Dagegen ist die Hemmung im Frühsommer und im Herbst vor Abschluß der Vegetation nicht oder nur mehr selten zu beobachten.
6. Der Grund hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß im Frühling noch keine intensive Ableitung aus den noch im Aufbau befindlichen Blättern vonstatten gehen dürfte, während im Herbst nach Abschluß des Wachsens bloß mehr ein schwacher Stofftransport stattfindet, bis die Lebenstätigkeit überhaupt in die Winterruhe ausklingt.
7. Für die Herabsetzung der Assimilationstätigkeit eines durch Unterbrechung der Ableitungswege isolierten Blattes dürfte die übermäßige Anhäufung von Assimilaten in den Blattzellen die Ursache sein, welche, ohne Möglichkeit, eine größere Menge der reichlich produzierten Kohlehydrate im eigenen Lebensprozesse zu verarbeiten oder zu speichern, die weitere Produktion derselben einstellen. Über die Wirkungsweise und den Mechanismus dieses Hemmungsvorganges wissen wir vorderhand soviel wie nichts.

### Literaturverzeichnis.

- 1 Boysen-Jensen, P. 1928. Über neue Apparate zur Messung der Kohlensäureassimilation, der Respiration usw. *Planta* **6**, 456.
  - 2 Boysen-Jensen, P. 1935. Über die Bestimmung der Assimilationsintensität. *Planta* **21**, 368.
  - 3 Boysen-Jensen, P. und Müller. 1929. Die maximale Ausbeute und der tägliche Verlauf der CO<sub>2</sub>-Assimilation. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*. **70**, 493.
  - 4 Gassner, G. und Goeze, G. 1934. Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. *Zeitschrift für Botanik*. **27**, 257.
  - 5 Iljin, W. S. 1923. Der Einfluß des Wassermangels auf die Kohlensäureassimilation. *Flora N. F.* **16**, 460 und 479.
  - 6 Iwanow, L. und Kosowicz. 1932. Über die Arbeit des Assimilationsapparates der Holzgewächse. II. *Journ. Bot. USSR*. **17**, 3. Referiert im *Botanischen Zentralblatt*. 1934. **24**, (166), 225.
  - 7 Kostytschew, S. 1921. Studien über Photosynthese II. Wirkt Wundreiz stimulierend auf die CO<sub>2</sub>-Assimilation am Lichte? *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*. **39**, 328.
  - 8 Kostytschew, S. und Mitarbeiter. 1930. Untersuchungen über die Photosynthese bei Laubblättern unter natürlichen Verhältnissen. *Planta* **5**, 696.
  - 9 Kostytschew, S. und Mitarbeiter. 1930. Untersuchungen über den Tagesverlauf der Photosynthese. 3 Arbeiten. *Planta* **11**, 117, 144 und 169.
  - 10 Kurssanow, A. L. 1933. Über den Einfluß der Kohlehydrate auf den Tagesverlauf der Photosynthese. *Planta* **20**, 585.
  - 11 Lubimenko, W. N. und Stscheglowa, O. A. 1932. Über den Einfluß des Protoplasmareizes auf die Photosynthese *Planta* **18**, 383.
  - 12 Münch, E. 1930. Die Stoffbewegung in der Pflanze. G. Fischer, Jena.
  - 13 Neubauer, H. F. 1936. Zur Ökologie der Photosynthese einheimischer Laubgehölze in Wald und Garten. *Die Gartenbauwissenschaft*. **10**, 380.
  - 14 Ssaposchnikow, A. 1890. Über die Grenzen der Anhäufung der Kohlehydrate. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft* **8**, 298.
  - 15 Ssaposchnikow, A. 1893. Beitrag zur Kenntnis der Grenzen der Anhäufung der Kohlehydrate in den Blättern. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*. **11**, 391.
-

## Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle.

Vierte Mitteilung:  
Das Redoxpotential der Gewebebreiaufschlämmung  
der Kartoffelknolle als Kennziffer des Abbaues.

Von

Hans Wartenberg und Alfred Hey.

Mit 16 Textabbildungen.

Inhalt: A. Einleitung. — B. Über die Beziehung zwischen Potentialwert und Abbau-krankheit und über die Erscheinung der „kritischen Zone“. — C. Die „kritische Zone“ und der „Grenzwert“. — D. Die „kritische Zone“ und der „Grenzwert“ als Sorteneigen-schaft. — E. Ist der „Grenzwert“ eine unveränderliche Größe? — F. Ist der „Grenzwert“ eine relative Größe? — G. Die statistische Berechnung des Pflanzgutwertes einer Herkunft aus der Variation der Redoxpotentiale der Gewebebreie ihrer Knollen. — H. Ergebnisse der Pflanzgutwertbestimmungen von Kartoffelherkünften. — I. Zusammenfassung der Ergebnisse. — K. Schriftenverzeichnis.

### A. Einleitung.

Die ersten drei Mitteilungen unserer Abhandlungen (7, 6, 5) berichteten über Untersuchungen, welche wir zur Beantwortung von Fragen der Methodik (7) und zur physikalisch-chemischen Charakterisierung (6, 5) des gemessenen Potentiales angestellt hatten. In der vorliegenden IV. Mit-teilung behandeln wir die Untersuchungen, welche die Beziehung zwischen Redoxpotential und Abbau aufdeckten.

Mit der beschriebenen Methode machten wir die Feststellung, daß die stabilen Potentialkonstanzen verschiedener Knollengewebe bei un-gleichen Potentialwerten eintreten können und daß der individuelle Kon-stanzwert eine Beziehung zum Abbauzustand der betreffenden Knolle hat. Ferner haben wir gefunden, daß der Pflanzgutwert einer Herkunft aus der Variation der Potentialwerte einer Anzahl Knollen zu berechnen ist. Wie wir zu diesen Erkenntnissen kamen, soll im folgenden auseinander-gesetzt werden.

Es wird keinem Sachkundigen aus rein theoretischen Überlegungen heraus einfallen, die Potentialmessungen mit physiologischen Systemen so anzustellen, wie wir sie ausführten; denn die Art der Versuchsanstellung

widerspricht allen Erfahrungen, die man auf diesem Gebiete bisher machen konnte. Daß ein turgeszentes, parenchymatisches Pflanzengewebe einen Zustand der Winterruhe annimmt, der vorläufig physiologisch noch nicht zu deuten ist, daß das Gewebe in diesem Zustande zerrieben und aufgeschlämmt werden kann, ohne daß dabei der Fermentapparat in einen ungehemmten Freilauf gerät — was außerhalb der Winterruhe geschieht, wobei dann das Potential dem Wasserstoffpotential zustrebt — und daß schließlich das Gewebe auch noch eine Vorrichtung hat, mit der es den erforderlichen anaeroben Zustand der Aufschlämmung selbsttätig herstellt und erhält, das ist alles ein ganz ausgefallen-glückliches Zusammentreffen fördernder Umstände. Das Finden der richtigen Methode, mit der die günstigen Umstände des Objektes auszunützen sind, war ein ebenso glückhafter Zufall. Wir hatten zuerst ohne allzulanges Laborieren eine Methode und mußten dann in zweiter Linie die Methode, die zunächst zu allen Erfahrungen im Widerspruch stand, theoretisch zu erklären versuchen. Letzteres führte zu den Untersuchungen, die in den ersten drei Mitteilungen besprochen sind.

Die erste Vorstellung davon, daß wir mit dem Redoxpotential der Gewebebreiaufschämmung einer Knolle eine Kennziffer ihres Abbauzustandes gefunden hatten, bekamen wir schon nach den ersten hundert Messungen. Das Kartoffelmaterial, welches damals untersucht wurde, stammte aus den ökologischen Versuchsreihen Merkenschlagers und seiner Mitarbeiter (3).

Die verschiedenen Abbaugrade der Herkünfte Dahlem, Lobeofsund, Hauslach usw. standen aus mehrjährigen Erfahrungen fest. Wir fanden Unterschiede zwischen den durchschnittlichen Potentialwerten dieser Herkünfte, die mit den Unterschieden ihrer Abbaugrade gleichgerichtet waren. Ebenso schien der Abbaugrad der Herkunft Hertefeld nach der Erfahrung bekannt zu sein. Bei allen Sorten dieser Herkunft konnten wir aber die Potentialwerte nicht so einreihen, daß die Aufstellung der Erwartung entsprach. Der spätere Feldanbau zeigte dann, daß der tatsächliche Gesundheitszustand des Hertefelder Materials in dem betreffenden Jahr von dem vermuteten stark abwich, und zwar in der Art, daß sich unsere Pflanzgutwertbestimmung, die wir nach unseren Messungen gestellt hatten und im Gegensatz zur bis dahin praktischen Erfahrung des Pflanzgutwertes dieser Herkunft stand, als richtig herausstellte. Das Erkennen des Pflanzgutwertes der Herkunft Hertefeld war der erste größere Erfolg der Methode.

Die ersten Messungen zeichneten sich durch etwas aus, was erst später als Voraussetzung für jede richtige Messung erkannt wurde. Jede Potentialbildung endete in einer mehrstündigen Potentialkonstanz, und jede Gewebebreiaufschämmung hatte eine vollkommene Melaninbildung. (Vgl. die Mitteilungen I und III.)

Es ist bezeichnend für die glücklichen Umstände, die während der ersten Versuche walteten, daß noch heute, nach vier Jahren, die Vorbereitungen und das Ansetzen der Proben in den wesentlichen Dingen grundsätzlich in gleicher Weise vor sich gehen, wie es damals geschah. Später stellte sich heraus, daß die Voraussetzungen für eine richtige Messung durchaus nicht bei jeder Knolle gegeben sind. Mangelhafte Melaninbildung kann eine Messung und damit selbstverständlich auch ihre Auswertung ungültig machen. Es ist bis heute noch nicht gelungen, die Melaninbildung solcher zur Messung ungeeigneten Knollen in Bahnen zu lenken, die ihre Verwendung ermöglichen würden. Auch die Förderung der Melaninbildung, die wir durch den Elektrolytzusatz erreichten (vgl. III. Mitteilung), erzielt nur eine erhöhte Anzahl verwertbarer Potentialmessungen, sie garantiert nicht die Verwertbarkeit aller Messungen. Wenn eine Knolle nur sehr wenig Melanogene enthält, dann nützt auch die Förderung der Melaninbildung, die ja die Inaktivierung des Oxydationsproduktes beschleunigt, nichts.

Messungen außerhalb der sog. „Winterruhezeit“ der Knollen können dadurch, daß die Potentialeinstellung zu schnell in den Gärungsabfall übergeht oder das Potential aus anderen Gründen nicht konstant wird, das gleiche negative Ergebnis haben. Die Einflüsse anderer Faktoren, über die in der vorliegenden Mitteilung zu sprechen sein wird, können Unsicherheiten in die Auswertung der Potentiale hineinbringen.

Solche Fehlerquellen wirken sich natürlich nur dann aus, wenn man sie nicht kennt oder sie nicht auszuschalten weiß. Bei unseren ersten Untersuchungen hatten wir das Glück, daß sich alle diese Fehlermöglichkeiten nicht auswirkten und darum keine Rolle spielten. So kam es, daß die Beziehung zwischen Redoxpotential und Abbauzustand der Knolle gleich im Anfang unserer Untersuchungen überraschend in Erscheinung trat. Darum konnte auch Hey (2) schon im Herbst 1932 in einer vorläufigen Mitteilung über die damaligen Ergebnisse unserer Untersuchungen berichten.

## B. Über die Beziehung zwischen Potentialwert und Abbaukrankheit und über die Erscheinung der „kritischen Zone“.

Die ersten Ergebnisse, welche Hey (2) mitgeteilt hatte, waren vor allen Dingen durch eine Reihe von Vergleichen gewonnen worden, die wir „Gegenproben“ nannten. Bei der Gegenprobe wurden die Knollen vor der Messung durch einen Kronen-Nabelschnitt halbiert; dann wurde eine Hälfte jeder Knolle zur Messung verarbeitet und die andere Hälfte im Gewächshaus eingetopft. Es zeigte sich am Aufwuchs im Gewächshaus unabhängig von der Sorte, daß den Potentialwerten von  $E_c - 100$  mV bis  $E_c - 150$  mV gesunde Pflanzen entsprachen, während Knollenhälfte, deren zugehörige Potentialwerte negativer als  $E_c - 200$  mV waren, nur kranke Pflanzen ergaben. Zwischen diesen beiden Gruppen lag ein Potentialwertbereich

mit einer Spanne von 50 mV, den wir damals schon als „kritische Zone“ bezeichneten, ein Ausdruck, der heute noch im Gebrauch ist, dessen begriffliche Auslegung aber inzwischen eine gewisse Änderung erfahren mußte.

Die „kritische Zone“ war dadurch kenntlich, daß Knollenhälften, die nach den Potentialwerten der entsprechenden Meßhälften in einer Reihe hintereinander ausgelegt worden waren, als Stauden keine scharfe Grenze zwischen gesund und krank erkennen ließen. Es waren zwar mit den extremen Potentialwerten gesunde und kranke Stauden absolut sicher voneinander zu trennen, aber in einem bestimmten mittleren Bereich der Potentialskala standen kranke und gesund aussehende Pflanzen wahllos durcheinander. Was der Erscheinung der „kritischen Zone“ zugrunde lag, war zunächst nicht zu erkennen.

Mit dem nachstehend beschriebenen Versuch wollen wir noch einmal die Erscheinung der „kritischen Zone“ zeigen. Gleichzeitig wollen wir auch auf etwas hinweisen, was uns auf einen Weg brachte, auf dem wir den verhältnismäßig breiten Potentialbereich einengen konnten, den die „kritische Zone“ ursprünglich einnahm.

Es wurden in der oben beschriebenen Art der Gegenprobe Knollen halbiert, die eine Hälfte jeder Knolle zur Messung verarbeitet und die andere Hälfte im Gewächshaus eingetopft.

In dieser Art der Versuchsanstellung ist ein Fehler, den wir schon in der dritten Mitteilung besprochen haben. Verarbeitet man verschiedene Teile einer Knolle jeweils für sich zu Halbelementen, dann ist es möglich, daß man Halbelemente vor sich hat, die stofflich nicht gleichmäßig zusammengesetzt sind und darum verschiedene Potentialwerte ergeben können. Obwohl uns diese Fehlerquelle und ihre Auswirkung bekannt waren, mußten wir für den vorliegenden Zweck den Weg der Gegenprobe beschreiten, denn es gibt keinen anderen, besseren Weg. Wir verhüteten die Auswirkung des Fehlers — so gut, wie es unter den gegebenen Umständen möglich war — dadurch, daß wir für den Versuch nur Knollen aussuchten, die sich in zwei morphologisch gleiche Teile halbieren ließen. In dieser Weise war es einigermaßen wahrscheinlich, daß die Meßhälfte der Knolle auch eine physiologische Ähnlichkeit mit der Pflanzhälfte hatte.

Wir wählten für den Versuch ein Knollenmaterial, das aus einer großen Anzahl gesunder und mehr oder weniger kranker Herkünfte zusammengesetzt war. Dadurch sollten Herkunftseinflüsse, die nichts mit dem Abbau zu tun haben, ausgeschaltet werden.

Die Messungen wurden als Blinduntersuchungen ausgeführt, d. h. der Untersuchende hatte keine Vorstellung von der Herkunft und ihrem Pflanzgutwert. Es kann darum an der Objektivität der Messungen nicht gezweifelt werden, zumal sie größtenteils von Hilfskräften ausgeführt wurden, denen Pflanzgutwert und Abbau fremde Begriffe waren.

Wir suchten aus einer großen Anzahl von Pflanzhälften einiger Sorten etwa 30 Stück je Sorte heraus, deren Meßhälften sich mit ihren Potentialwerten gleichmäßig über die Spanne der Potentialskala verteilten, die von der betreffenden Sorte überhaupt eingenommen wurde. In dieser Weise erhielten wir mit dem Aufwuchs im Gewächshaus ein Ergebnis, dessen Sinn später von dem statistisch ausgewerteten Ergebnis eines Feldversuches bestätigt wurde. Den Feldversuch werden wir weiter unten beschreiben. Mit dem Gewächshausversuch können wir das Ergebnis in Pflanzenbildern zeigen, die dem Leser eine bessere Vorstellung der Dinge erlauben, als er sie anhand von Lichtbildaufnahmen eines Feldversuches gewinnen könnte.

Die Abbildungen 1 bis 3 zeigen neun Pflanzen eines gleichaltrigen Aufwuchses aus Knollenhälften der Sorte „Erstling“. Unter jeder Pflanze ist das Redoxpotential angegeben, das mit der Meßhälfte der Knolle festgestellt werden konnte, deren Pflanzhälfte die Mutterknolle der betreffenden Pflanze war. Einen entsprechenden Versuch mit der Sorte „Magdeburger Blaue“ zeigen die Abbildungen 4 bis 6. Weil anhand dieser Abbildungen dasjenige, was über den Gesamtversuch zu sagen ist, gezeigt werden kann, hat es keinen Zweck, noch mehr Beispiele gleichsinniger Ergebnisse zu bringen. Wir beschränken uns auch bei der Darstellung dieser beiden Sorten darauf, statt 30 nur 9 Pflanzen des Versuches zu zeigen. Diese neun Pflanzen sind jeweils die typischen Vertreter der betreffenden Sorte und geben in ihrer Gesamtheit das wieder, was man auch an der größeren Zahl sehen würde. Die kleinere Zahl hat den Vorteil, daß man die Erscheinung der Einzelpflanze besser zeigen kann.

Vergleicht man die Pflanzenbilder, dann ist zu sehen, daß die Parallele zwischen Potentialwert und Abbaugrad, die wir schon in der vorläufigen Mitteilung beschrieben hatten, sowohl bei der Sorte „Erstling“ als auch bei der Sorte „Magdeburger Blaue“ zum Ausdruck kommt.

Die ziemlich scharfe Trennung von gesund und krank, wie sie die Reihe der Sorte „Erstling“ beim Überschreiten des Wertes  $E_c - 200$  mV zeigt, ist, wie wir es auch später bei der Beschreibung des Feldversuches zeigen werden, ein Zufall. Die Reihe der Sorte „Magdeburger Blaue“ kommt den tatsächlichen Verhältnissen, die man bei der Besichtigung einer — mit größerer Anzahl Pflanzen besetzten — Reihe im Feldbestand findet, näher. Bei ihr sind die Vertreter der Potentialwerte bis  $E_c - 170$  mV gesund und unter  $E_c - 185$  mV krank. Dagegen sind von drei Vertretern des Wertgebietes zwischen  $E_c - 170$  mV und  $E_c - 185$  mV nur zwei Pflanzen, und zwar diejenigen mit den positiveren Potentialwerten, einwandfrei krank. Auf diese Dinge werden wir weiter unten noch näher eingehen. Hier sei nur noch auf folgendes hingewiesen:

Bei der Sorte „Erstling“ waren alle Pflanzen bis zum Wert  $E_c - 200$  mV hinunter gesund, wogegen bei der Sorte „Magdeburger Blaue“ schon beim

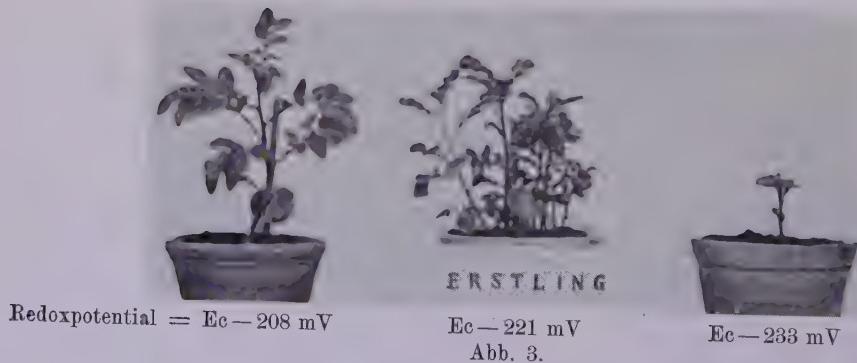
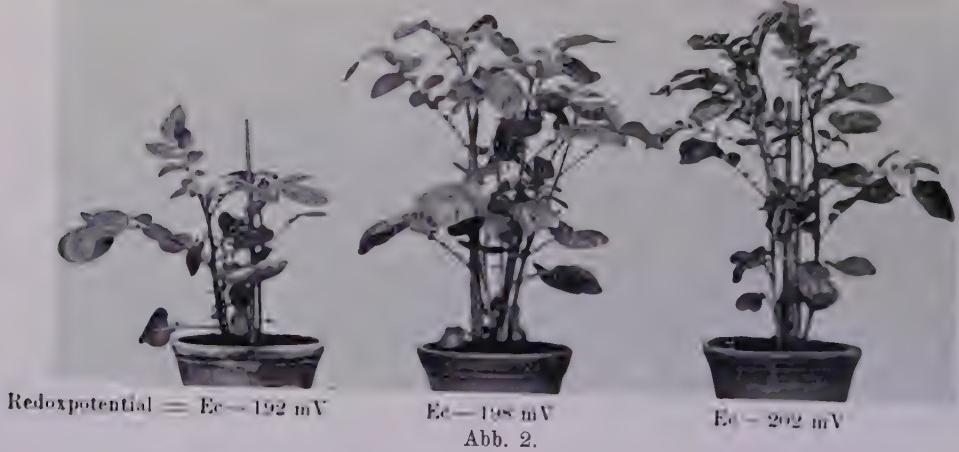


Abbildung 1 bis 3: Stauden der Kartoffelsorte „Erstling“ im gleichen Wachstumsalter. Die Mutterknollen der Stauden sind verschiedenen Herkünften entnommen. Die Aufstellung erfolgte in der Reihe fortschreitend negativerer Redoxpotentiale der Mutterknollen.

Redoxpotential =  $E_c - 136$  mV

Ec - 150 mV

Abb. 4.

Ec - 157 mV

Redoxpotential =  $E_c - 175$  mV

Ec - 176 mV

Abb. 5.

Ec - 185 mV

Redoxpotential =  $E_c - 193$  mV

Ec - 195 mV

Abb. 6.

Ec - 207 mV

Abbildung 4 bis 6: Stauden der Kartoffelsorte „Magdeburger Blaue“ im gleichen Wachstumsalter.  
 Die Mutterknollen der Stauden sind verschiedenen Herkünften entnommen. Die Aufstellung erfolgte in der Reihe fortschreitend negativerer Redoxpotentiale der Mutterknollen.

Potentialwert  $E_c = 175$  mV die kranken Pflanzen auftraten. Wenn man auch nicht von einer Grenzscheide, von einem diskreten Grenzwert, zu reden berechtigt ist, so ist doch zu erkennen, daß die Wertgebiete, in welchen die Übergänge von gesund zu krank stattfinden, bei zwei Sorten verschiedene Lagen in der Potentialskala haben. Zieht man weiterhin in Betracht, daß die Wertgebiete enger als die von uns früher beschriebene „kritische Zone“ umgrenzt sind, dann ist anzunehmen, daß es sorteneigene „kritische Zonen“ gibt, die ein kleineres Intervall der Potentialskala einnehmen. Deshalb wird, wenn einmal die „kleinen kritischen Zonen“ der einzelnen Sorten festgestellt sein werden, die „große, alle Sorten umfassende, kritische Zone“ eine Aufteilung erfahren.

Zu den Gewächshausversuchen ist noch folgendes zu bemerken. Sei es, daß das Auftreten der Symptome bei den im Gewächshaus eingetopften Pflanzen sich besser beobachten und verfolgen läßt als bei den Pflanzen des Freilandversuches, oder sei es, daß der Krankheitsverlauf und die Entwicklung der Symptome unter den Bedingungen des Gewächshausversuches ganz andere Bahnen und Rhythmen haben als im Feldbestand, jedenfalls muß man bei der Beurteilung des Krankheitszustandes folgendes beachten.

Einige Sorten, wie z. B. die „Odenwälder Blaue“, können nach dem Aufgehen an den jungen Stauden Erscheinungen zeigen, die man bei anderen Sorten als Abbausymptome kennt. Man kann sie aber bei der „Odenwälder Blaue“ nicht als Abbausymptome bewerten, weil sie erstens einige Tage später wieder verschwunden sind, zweitens auch bei gesunden Herkünften auftreten können und drittens weder mit dem Ertrag noch mit dem Nachbauwert der betreffenden Herkünfte parallel gehen. Man muß also darauf warten, ob sich Abbausymptome entwickeln, die nicht wieder verschwinden. Unter allen Umständen muß man den ganzen Vegetationsverlauf verfolgen, ehe man die Echtheit des Abbausymptomes beurteilen kann. Nur die irreversibel fixierten Abweichungen der Staudenstruktur, die während des Vegetationsverlaufes nicht wieder verschwinden, stehen in einer Beziehung zum wirklichen Abbau, d. h. in einer Beziehung zum fortschreitenden Verlust der Vegetationsleistung, der letzten Endes ein Verlust der Sproßfähigkeit ist; und nur diese Erscheinungen können anhand der veränderten Redoxpotentiale vorausgesagt werden.

Daß die Forderung, man müßte den ganzen Vegetationsverlauf verfolgen, berechtigt ist, wollen wir auch an einem Fall zeigen, der ein Gegenstück zu dem Fall der Sorte „Odenwälder Blaue“ ist. Dort waren abbauähnliche Erscheinungen zu sehen, die wieder verschwanden und nichts mit dem Abbau zu tun hatten. Im Gegensatz dazu kann z. B. bei der Sorte „Parnassia“ das Auftreten der Abbausymptome verzögert sein. Es kann vorkommen, daß die Vertreter einer gesunden und einer kranken Herkunft bis zum vollen Aufwuchs der Stauden — etwa bis zur Zeit der

Blüte — nicht zu unterscheiden sind. Erst dann beginnt sich das Krankheitsbild zu entwickeln, und innerhalb weniger Tage sind die Vertreter der kranken Herkunft typische Blattroller.

Die Abbildungen 7 und 8 zeigen einen solchen Fall. Wir hatten die Mutterknollen der Stauden aus einem Gemisch von Knollen verschiedener Herkünfte entnommen und anhand der mit den Knollenhälften gemessenen Potentialwerte im Gewächshaus in Gruppen zusammengestellt. Bis zur Zeit der Blüte zeigte sich kein Unterschied im Aufwuchs. Erst dann setzte bei den Stauden, mit deren Mutterknollenhälften die tiefsten Redoxpotentiale gemessen worden waren, das Blattrollen ein und führte zu einer Staudentracht, die alle typischen Symptome der Blattrollkrankheit aufzuweisen hatte.

Die Gegenüberstellung solcher Erscheinungen der Sorten „Odenwälder Blaue“ und „Parnassia“ mögen genügen, um zu zeigen, daß man bei der Beurteilung der Symptome der Abbaukrankheiten — vor allen Dingen im Gewächshaus — äußerst vorsichtig vorgehen muß. Man muß unter allen Umständen den ganzen Vegetationsverlauf verfolgen und kann nur dann eine Erscheinung als Abbausymptom ansprechen, wenn sie während des Vegetationsverlaufes irreversibel fixiert ist.

### C. Die „kritische Zone“ und der „Grenzwert“.

Die strenge Auslese gesunder und kranker Knollen, die uns mit den Knollen extremer Potentialwerte gelungen war, und die Andeutung der sortenspezifischen „kritischen Zone“, die wir in den oben beschriebenen Gewächshausversuchen gefunden hatten, schienen uns genügend sichere Anhaltspunkte dafür zu sein, daß sich die „kritische Zone“ noch irgendwie einengen lassen würde. Von dieser Möglichkeit war die Brauchbarkeit der Methode abhängig; denn eine „kritische Zone“ mit einer Spanne von 50 mV würde in vielen Fällen den ganzen Potentialbereich umfassen, den die Variation der Potentialwerte einer Herkunft einnimmt. Damit ist nicht gesagt, daß wir auf einen, mit Millivoltgenauigkeit erfaßbaren Grenzwert hinzielten.

Einen diskreten Potentialwert als Grenzscheide zwischen gesund und krank anzunehmen, wäre eine Arbeitshypothese, die von einem Mangel an biologischer Erfahrung zeugen würde. Diskrete Punkte der physikalischen Wertordnung, wie z. B. der Gefrierpunkt oder der isoelektrische Punkt, können für den eukolloidalen Zustand der lebenden Substanz eine entscheidende Rolle spielen. Es können auch einzelne Funktionen des Stoffwechselgeschehens, wenn man sie unter den Bedingungen exakter Experimentalarbeit betrachtet, von dem Erreichen bestimmter Punkte der Wertreihe eines beteiligten Faktors in ihren Richtungen entscheidend beeinflußt werden. Aber ein biologisches Geschehen wie den Abbau der Kartoffel, dessen Mannigfaltigkeit an Bedingungen und Erscheinungsformen



Abb. 7.



Abb. 8.

Abbildung 7 und 8: Stauden der Kartoffelsorte „Parnassia“ im gleichen Wachstumsalter. Das Blattrollen der Stauden, deren Mattatknochen negativere Redoxpotentiale hatten, setzte erst mit dem Anfang der Blüte ein. Bis dahin waren gesunde und kranke Stauden nicht zu unterscheiden.

vorläufig noch nicht zu übersehen ist, mit strengen Grenzen einer Werteskala erfassen zu wollen, wäre ein Vorhaben, das den Kundigen, der die Dinge in der Natur gesehen und erlebt hat, befremden würde.

Im Anschluß an die oben beschriebenen Gewächshausversuche war es das Nächstliegende, zu untersuchen, ob sich die „kritische Zone“ auch mit demselben Ausmaß zeigt, wenn man das in der Art der Gegenprobe behandelte Untersuchungsmaterial aus vielen gesunden und abgebauten Herkünften einer Sorte zusammensetzt und die Pflanzenhälften im Feldversuch anbaut. Wir verschafften uns also von einer Reihe Kartoffelsorten jeweils eine möglichst große Anzahl von Herkünften. Dabei wurde darauf geachtet, daß in der Herkunftssammlung sowohl gesunde Herkünfte wie alle Abbaustufen vertreten waren.

Das Material wurde bis zum Frühjahr nach der Methode, die oben schon beschrieben ist, für die Gegenprobe verarbeitet. Die Potentialmessungen mußten wegen der Arbeitsverteilung schon im Laufe des Winters angestellt werden. Die Pflanzenhälften konnten darum nicht gleich ausgepflanzt werden. Sie wurden deshalb, nachdem die Schnittflächen einigermaßen verkorkt waren, im Kartoffelkeller bis zur Pflanzzeit aufbewahrt. Wir bezeichneten sie mit der Nummer, welche die Meßhälften in der Liste der potentiometrischen Untersuchungen hatten und schrieben sicherheitshalber mit Tintenstift auf die unverletzte Schale der Kartoffel den Potentialwert, der mit der betreffenden Meßhälfte festgestellt worden war.

Bei der Aufbewahrung hatten wir leider große Fäulnisverluste. Schon in der ersten Mitteilung wurde beschrieben, daß der Wundverschluß der Kartoffel während der Winterruhe nur unvollkommen ausgebildet wird. Dies war der Grund der Fäulnisverluste. Es blieb aber immer noch so viel Material von der Fäulnis verschont, daß die Versuche mit genügender Sicherheit durchgeführt werden konnten.

Das Auspflanzen der Pflanzenhälften auf dem Versuchsfelde erfolgte nach einem Schema, das uns erlaubte, die Herkunft und den Potentialwert der Mutterknolle jeder Pflanze anhand einer Liste an Ort und Stelle feststellen zu können, das aber auch gestattete, die Vertreter einer Sorte in einer Reihenfolge auszupflanzen, die ungefähr der Reihenfolge der Potentialwerte entsprach.

Es zeigte sich im Feldversuch, daß die Staudentracht des Aufwuchses in der Reihenfolge der Potentialwerte verschieden war. Die Mutterknollen mit hohen Potentialwerten ergaben Stauden, die kein üppiges Wachstum hatten, aber in ihren einzelnen Teilen gut proportioniert waren. Der Aufwuchs aus den Mutterknollen mit etwas negativeren Potentialwerten neigte zum Luxurieren, so daß dieser Bestand üppiger und geschlossener erschien als der erstgenannte. Daran schloß sich ein Potentialbereich, bei dem luxurierende Stauden und Stauden mit einwandfreien



Abb. 9.



Abb. 10.



Abb. 11.

Abbildungen 9, 10 und 11: Feldbestand der Kartoffelsorte „Parnassia“ im Gegenprobeverfahren. Die Pflanzhälften sind in der Reihe von den höchsten Redoxpotentialwerten (im obersten Bild links) bis zu den niedrigsten Redoxpotentialwerten (unterstes Bild rechts) ausgepflanzt. Die Mitte des mittleren Bildes umfaßt etwa die „kritische Zone“.

Symptome des Abbaues durcheinander standen. Bei noch negativeren Potentialwerten stieg die Zahl der kranken Stauden, und in den Gebieten der tiefen Potentialwerte waren alle Stauden krank. Die Abbildungen 9, 10 und 11 vermittelten den Eindruck, den man bei der Betrachtung des Feldbestandes gewinnen konnte, so gut, wie man es mit der Lichtbildaufnahme eines Feldbestandes erreichen kann. Was man mit einer solchen Lichtbilddaufnahme zeigen kann, steht in keinem Vergleich zu dem Eindruck, den der Feldbestand selbst machte.

Es seien hier einige Worte über die Beziehung der Potentialwerte zur Art der Symptome des Abbaues eingefügt. Nur eine Erscheinung zeigte sowohl mit dem Anfang des Auftretens als auch mit der steigenden Befallsstärke die Andeutung einer quantitativen Beziehung zu den Potentialwerten. Dies war das Blattrollen. Alle anderen Abbausymptome traten sporadisch auf. Sie waren mit einzelnen Fällen schon in relativ hohen Potentialwertgebieten vertreten, in denen das Blattrollen noch nicht seinen Anfang hatte und häuften sich in den Gebieten niedrigerer Potentialwerte.

Diese Beziehungen, die wir hier nur mit ein paar Worten berühren können, müssen noch mehr untersucht werden. Es ist eine Aufgabe, mit der die Frage nach der Abbauresistenz aufgeworfen wird und mit der die komplexe Erscheinung „Abbau“ in ihren einzelnen Komponenten behandelt werden muß. Weil wir mit unseren Untersuchungen zunächst einmal zu einem möglichst unkomplizierten Abschluß eines Teiles unserer Arbeiten kommen mußten, gingen wir bei der statistischen Auswertung der Gegenproben des Feldbestandes einen einfachen Weg. Wir bewerteten nicht die Art des Abbausymptomes, sondern stellten fest, ob die Pflanze Nr. x gesund war oder irgendwelche Abbausymptome zeigte. War letzteres der Fall, dann wurde sie einfach als krank bezeichnet. Auf Grund dieser Alternativfrage ist auch das Ergebnis der statistischen Auswertungen in den Abbildungen 12, 13 und 14 dargestellt.

Dort zeigen die Kurven A die Variationen der Potentialwerte von Mutterknollen gesunder Pflanzen und die Kurven B die Variationen der Potentialwerte der Mutterknollen kranker Pflanzen. Unter jedem Bild sind die Variationsdaten der Kurven aufgeführt. Sie beweisen, daß das Ergebnis fehlerkritisch gesichert ist.

Anhand dieser drei Abbildungen ist folgendes festzustellen:

1. Die abbaukranken Kartoffelknollen unterscheiden sich von den gesunden Kartoffelknollen durch die Werte der Redoxpotentiale, welche mit den Gewebebreien der Knollen gemessen werden können.
2. Die Werte der Redoxpotentiale gesunder Knollen sind gegen das Potential der gesättigten Kalomel-elektrode weniger negativ als diejenigen der kranken Knollen.

3. Der Potentialbereich der kranken Knollen ist von dem der gesunden nicht scharf getrennt. Die Variationskurven der Potentialwerte kranker und gesunder Knollen überschneiden sich in einem Potentialgebiet mit einer Spanne von etwa 20 Millivolt.
4. Das Potentialgebiet, in welchem sich die Variationskurven überschneiden, ist sortentypisch, d. h., es hat

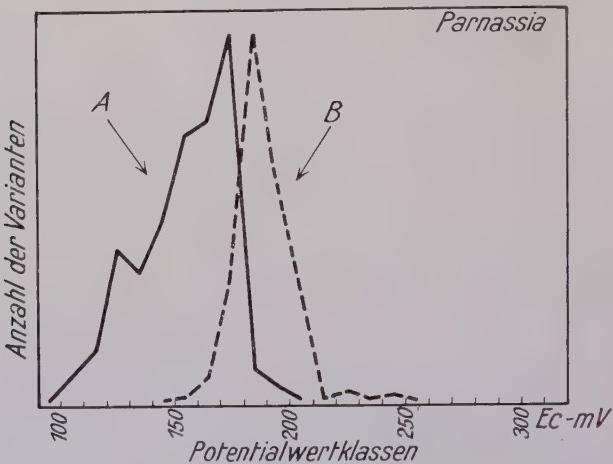


Abb. 12.

Häufigkeitskurven der Redoxpotentiale von Mutterknollen gesunder und abbaukranker Kartoffelstauden.

Sorte: „Parnassia.“

Kurve A zeigt die Verteilung der Mutterknollen gesunder Stauden.

Anzahl der Varianten: 327. Mittelwert der Variation:  $Ec = 154,48 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 19,74 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 1,09 \text{ mV}$ .

Kurve B zeigt die Verteilung der Mutterknollen kranker Stauden.

Anzahl der Varianten: 192. Mittelwert der Variation:  $Ec = 188,54 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 11,50 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 0,83 \text{ mV}$ .

Herkünfte: Mechow, Aschersleben, Stade, Lobeofsund, Werben, Dahlem I, Dahlem II.

eine Lage in der Potentialwertskala, die von Eigenschaften der Sorte abhängig ist.

5. Je näher das Redoxpotential einer Knolle der Mitte des Überschneidungsgebietes liegt, mit desto weniger Sicherheit kann man den Potentialwert als Kennziffer ihres Gesundheitszustandes verwenden. Liegt der Potentialwert außerhalb der Grenzen des Überschneidungsgebietes, dann ist für die Beurteilung des Gesundheitszustandes eine große Sicherheit gegeben.

Aus den Abbildungen 12 bis 14 geht hervor, daß die Überschneidung der Variationskurven gesunder und kranker Knollen bei der Sorte „Parnassia“

im Potentialbereich von etwa  $E_c = 165 \text{ mV}$  bis  $E_c = 185 \text{ mV}$ , bei der Sorte „Erstling“ im Potentialbereich von etwa  $E_c = 180 \text{ mV}$  bis  $E_c = 200 \text{ mV}$  und bei der „Odenwälder Blaue“ im Potentialbereich von etwa  $E_c = 200 \text{ mV}$  bis  $E_c = 220 \text{ mV}$  liegt. Nimmt man die Überschneidungen der Variationskurven aller drei Sorten zusammen, dann ergibt sich ein Spannungsbereich von etwa

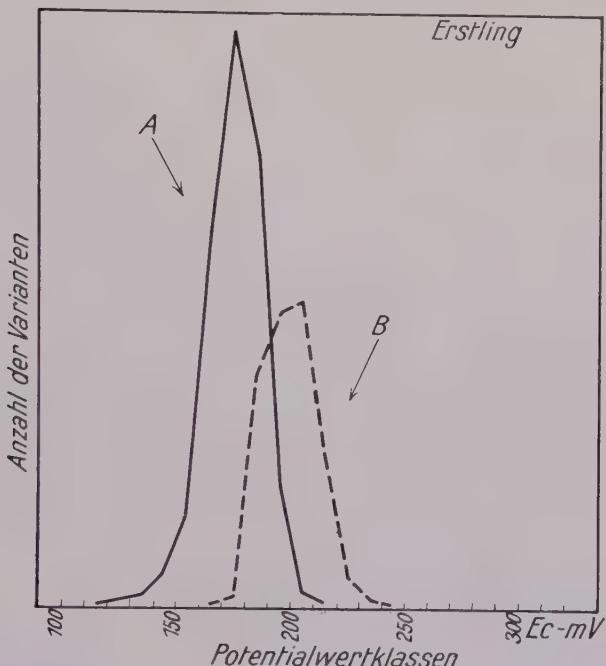


Abb. 13.

Häufigkeitskurven der Redoxpotentiale von Mutterknollen gesunder und abbaukranker Kartoffelstauden.

Sorte: „Erstling“.

Kurve A zeigt die Verteilung der Mutterknollen gesunder Stauden.

Anzahl der Varianten: 370. Mittelwert der Variation:  $E_c = 175,05 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 11,97 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 0,62 \text{ mV}$ .

Kurve B zeigt die Verteilung der Mutterknollen kranker Stauden.

Anzahl der Varianten: 222. Mittelwert der Variation:  $E_c = 199,46 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 11,21 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 0,75 \text{ mV}$ .

Herkünfte: Ribbeckshorst, Sydow, Garlstorf, Stein, Schönhof, Schönberg, Röntorf, Seefeld, Güldenhof, Johannistal, Joachimshof, Schönerlinde, Stade, Aschersleben, Buch, Mechow, Groß-Ziethen, Tapiau, Wiesenburg, Werben, Holland, Dahlem, Winterfeld.

55 mV, in welchem die Anwendung des Redoxpotentiales als Kennziffer des Gesundheitszustandes dann unsicher ist, wenn man die sortentypischen Grenzen nicht berücksichtigt. Dieser Spannungsbereich entspricht der „großen kritischen Zone“, die wir ursprünglich ohne Berücksichtigung der Sortenfrage angenommen hatten. Die große kritische Zone ist also in kleinere,

sortentypische, aufzuteilen, womit die Pflanzgutwertbestimmung an Sicherheit gewinnt.

Besteht auf der Grundlage der oben belegten Tatsachen die Möglichkeit, den Gesundheitszustand einer beliebigen Knolle anhand des Redoxpotentiales ihres Gewebebreies festzustellen? Wenn der Potentialwert außerhalb der kritischen Zone liegt, dann braucht nicht daran gezweifelt zu werden. Anders ist es, wenn der Wert innerhalb der kritischen Zone

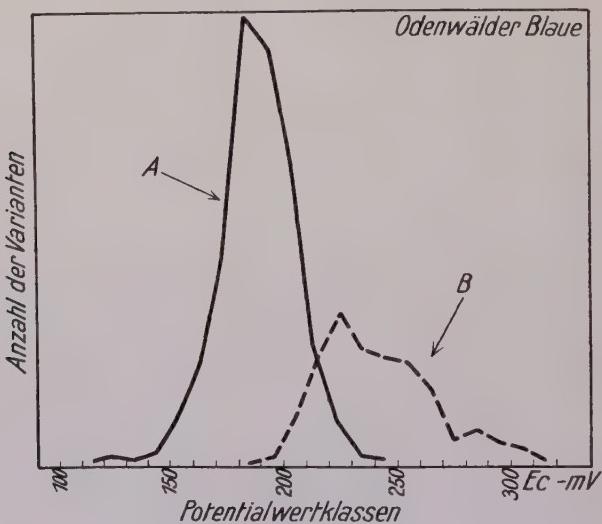


Abb. 14.

Häufigkeitskurven der Redoxpotentiale von Mutterknollen gesunder und abbaukranker Kartoffelstauden.

Sorte: „Odenwälder Blaue“.

Kurve A zeigt die Verteilung der Mutterknollen gesunder Stauden.

Anzahl der Varianten: 378. Mittelwert der Variation:  $E_c = 190,21 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 15,84 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 0,81 \text{ mV}$ .

Kurve B zeigt die Verteilung der Mutterknollen kranker Stauden.

Anzahl der Varianten: 171. Mittelwert der Variation:  $E_c = 241,14 \text{ mV}$ .

Standardabweichung:  $\pm 24,07 \text{ mV}$ . Mittlerer Fehler des Mittelwertes:  $\pm 1,84 \text{ mV}$ .

Herkünfte: Stade, Schönerlinde, Aschersleben, Groß-Ziethen, Waßmannsdorf, Mechow, Dahlem I, Schellerhau, Albertshof, Dahlem III.

liegt. Die Wahrscheinlichkeit, ein Fehlurteil zu fällen, ist dann um so größer, je näher der Wert dem mittleren Potential der kritischen Zone liegt.

Den mittleren Potentialwert der kritischen Zone haben wir den „Grenzwert“ genannt, womit nicht gesagt sein soll, daß das Nichteerreichen oder das Überschreiten dieses Wertes über den Gesundheitszustand entscheidet. Der Ausdruck „Grenzwert“ bezeichnet den Potentialwert, bei dem bei der betreffenden Sorte die größte Unsicherheit

der Beziehung zwischen dem Gesundheitszustand und dem Redoxpotential besteht. Es wird weiter unten noch besprochen werden, wie die Daten der kritischen Zone und des Grenzwertes bei der praktischen Pflanzgutwertbestimmung als statistische Größen zu verwenden sind.

#### D. „Kritische Zone“ und „Grenzwert“ als Sorteneigenschaft.

Nachdem wir im vorigen Abschnitte anhand der drei Sorten „Parnassia“, „Erstling“ und „Odenwälder Blaue“ gezeigt haben, daß die große kritische Zone aller Sorten aus kleineren kritischen Zonen zusammengesetzt ist, die als sortentypische Erscheinungen je nach der Sorte verschiedene Bereiche der Potentialskala einnehmen, wollen wir diesbezüglich die Sortenfrage behandeln.

Wir hatten 14 Sorten in derselben Art der Gegenproben verarbeitet, wie es mit den oben genannten Sorten geschehen war. Der Sortenvergleich zeigte in verschiedener Hinsicht bemerkenswerte Ergebnisse. Bei der ersten Bestandesbeurteilung fiel auf, daß die Beziehung zwischen Potentialwert und Abbaugrad bei denjenigen Sorten am klarsten zum Ausdruck kam, deren Knollen bei den elektrometrischen Messungen im Laboratorium am wenigsten Schwierigkeiten gemacht hatten, d. h., bei denen in erster Linie infolge einwandfreier Melaninbildung in fast 100 Prozent der Messungen ein stabiler Konstanzwert erreicht worden war.

Zu den Sorten, deren Melaninbildung eine sichere Messung ermöglicht hatte, gehörten „Erstling“, „Odenwälder Blaue“, „Industrie“, „Direktor Johanssen“ und „Preußen“. Mit einem Abstand genügten den Erfordernissen der Messung auch die Sorten „Parnassia“, „Magdeburger Blaue“, „Magnum bonum“ und „Zwickauer frühe Gelbe“. Dagegen hatten bei den Sorten „Erdgold“, „Ackersegen“ und „Wohltmann“ einige Herkünfte mangelhafte Melaninbildung. Wir haben die Knollen solcher Herkünfte, sofern sie bei der Messung noch einen Konstanzwert ergeben hatten, der aber auf Grund der anderen Umstände als nicht stabil anzusprechen war, besonders gekennzeichnet und sie im Rahmen ihrer Sorte ausgepflanzt.

Bei der Sorte „Ovalgelbe“ mußten von den fünf Herkünften, die uns zur Verfügung standen, alle Knollen gekennzeichnet werden, da bei keiner Knolle die Melaninbildung während der Messung auch nur annähernd genügte. Trotzdem hatten viele Halbelemente einen (scheinbaren) Konstanzwert erreicht. Bei dieser Sorte, die außerdem durch Fäulnis im Boden nur zu 30 % auftrat, wurde keine Spur einer Beziehung des gemessenen Potentialwertes zu dem Gesundheitszustande der Pflanze auf dem Felde sichtbar. Gesunde und kranke Pflanzen waren regellos über den ganzen lückigen Bestand verteilt. Es kann also nicht genug davor gewarnt werden, die Melaninbildung des Reibefleisches außeracht zu lassen (vergl. III. Mitteilung).

Damit ist nun nicht gesagt, daß die elektrometrische Methode der Pflanzgutwertbestimmung bei der „Ovalgelben“ grundsätzlich versagt. Bei jeder Sorte können Herkünfte vorkommen, die wegen der Mangelhaftigkeit der Melaninbildung nicht zu messen sind, und der oben erwähnte Fall scheint ein zufälliges Zusammentreffen ungeeigneter Herkünfte gewesen zu sein. Andererseits können wir nicht mit Bestimmtheit die Frage beantworten, ob es Sorten gibt, die aus irgendwelchen erblich bedingten Eigenschaften heraus schlechte Melaninbildner sind.

Wir wollen noch einige andere Schwierigkeiten aufzeigen, denen man bei der Auswertung solcher Versuche begegnen kann.

So war z. B. bei der Sorte „Wohltmann“ die Beziehung zwischen Potentialwert und Gesundheitszustand im Feldbestand zwar deutlich ausgeprägt, aber die kritische Zone umfaßte einen verhältnismäßig großen Potentialbereich. Es gibt nun zwei Sorten „Wohltmann“, eine breitblättrige und eine schmalblättrige. Man erhält nicht selten ein Gemisch beider Sorten als angeblich sortenreine Herkunft, die dann einfach die Sortenbezeichnung „Wohltmann“ hat. Solche Vermischungen können — wie wir erfahren mußten — auch bei anderen Sorten vorkommen, und eine einwandfreie Pflanzgutwertbestimmung ist dann nicht darzustellen.

Eine andere Schwierigkeit ergab sich bei der Feststellung des Grenzwertes der Sorte „Preußen“. Der ganze Feldbestand dieser Sorte, unter dem auch bekannte gute Herkünfte waren, hatte Mosaiksymptome aufzuweisen, die je nach der Witterung stärker oder schwächer sichtbar wurden, ohne jemals ganz zu verschwinden. Die Grenze zwischen dem besseren und schlechteren Teil des Feldes zeigte sich allerdings in einem sehr starken Absinken der Wuchshöhe nach der Seite der negativen Potentialwerte und in einem gehäuften Auftreten der Symptome des starken Abbaues in den Gebieten der tiefen Potentiale. Hier waren also die Mosaikerscheinungen immer mit Kümmerwuchs verbunden. Die Grenze des Wechsels der Erscheinungen deutete an, daß der Grenzwert der Sorte „Preußen“ mit dem der Sorte „Industrie“ übereinstimmt. Die Erscheinung des leichten Mosaiks an Stauden der Sorte „Preußen“ ist nicht unter allen Umständen mit Abbau gleichzustellen.

Wie bei dem oben erwähnten Fall der Sorte „Ovalgelbe“ kamen wir auch im gleichen Versuch mit dem Bestand der Sorte „Datura“ zu keinem Ergebnis. Auch hier standen gesunde und kranke Stauden wahllos durcheinander. Im Gegensatz zum Fall der Sorte „Ovalgelbe“ waren die Melaninbildungen und die Messungen der Knollen einwandfrei gewesen. Alle Halbelemente hatten eine stabile Potentialkonstanz erreicht. Aus dem Untersuchungsprotokoll ging aber hervor, daß alle Knollen des Materials dieser Sorte eisenfleckig gewesen waren. Es ist zwar versucht worden, vor der Herstellung des Gewebebreies die größeren Eisenflecken aus der Knolle herauszuschneiden, aber schließlich mußte auch ein größeres

Knollenstück übrigbleiben, das man noch zu einem Gewebebrei zerreiben konnte. Es war also nicht zu vermeiden, daß eisenfleckige Gewebeteile mit in die Aufschlämmung des Gewebebreies und in das Halbelement hineinkamen.

Wir haben später mit besonderen Versuchen die Wirkung, welche die Eisenfleckigkeit auf die Potentialbildung hat, untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß die Gewebeteile, welche frei von Eisenflecken sind, die üblichen Potentiale ergeben, die eine Beziehung zum Abbaugrad der Knolle haben. Kommen aber eisenfleckige Gewebeteile mit in die Aufschlämmung hinein, dann wird durch diese das Potential erhöht, d. h., es wird bei einem positiveren Wert eine stabile Potentialkonstanz erreicht, und dadurch wird die Beziehung, welche der Potentialwert zum Abbau hat, verdeckt.<sup>1)</sup> Es ist klar, daß dieser Fehler nur unter sehr schwierigen Versuchsbedingungen zu vermeiden ist. Herkünfte mit einer großen Anzahl eisenfleckiger Knollen sind deshalb von der Pflanzgutwertbestimmung auszuschließen.

Im Feldbestand war bei allen anderen Sorten eine klare Unterteilung in eine Zone gesunder Pflanzen und in eine Zone kranker Pflanzen zu erkennen, die durch eine 20 mV, im Einzelfall auch bis 30 mV, breite „kritische Zone“ voneinander getrennt waren.

Aus dem, was bisher beschrieben wurde, geht hervor, daß das Redoxpotential des Gewebebreies einer Knolle nur auf der Grundlage der Kenntnisse der sorteneigentümlichen Grenzwerte eine Bedeutung als Kennziffer des Abbaues hat.

Die Sortenabhängigkeit des Auftretens einer Erscheinung oder eines Ereignisses ist für den Biologen eine selbstverständliche Erwartung; denn bei allen modernen Arbeiten finden wir die zwei Stufen der Entwicklung: erstens die Erkenntnis der mittleren Allgemeingültigkeit eines Prinzips und zweitens die Erkenntnis der Art- bzw. Varietätsabhängigkeit des tatsächlichen Ereignisses.

In unserer Angelegenheit scheint die Spezialisierung ein Umstand zu sein, der die praktische Verwertbarkeit der Methode erschweren könnte. Nach den Erfahrungen, die bisher vorliegen, ist es aber nicht so schwierig, wie es zunächst zu sein scheint; denn viele Sorten können in Gruppen zusammengefaßt werden, deren zugehörige Sorten den gleichen oder annähernd gleichen Grenzwert haben. Selbstverständlich muß der Grenzwert und die Gruppenzugehörigkeit des Grenzwertes jeder Sorte festgestellt werden, ehe man eine praktische Verwertung der Methode in größerem Umfange ausführen kann.

<sup>1)</sup> Vgl. Ehrke (1), der über das Redoxpotential eisenfleckiger Kartoffelgewebe geschrieben hat.

Die nachfolgenden Angaben über die Grenzwerte der Sorten fußen auf der Bedingung, daß die Potentiale in der Zeit der Winterruhe gemessen sind, d. h. in einer Zeit, in der nahezu 100% der Gewebebreiaufschlämmungen aller Sorten und Herkünfte stabile Potentialkonstanzen ergeben. Wir werden im nächsten Abschnitte unserer Abhandlung zeigen, daß der angegebene Grenzwert einer Sorte oder einer Sortengruppe nur für diesen mehr oder weniger scharf begrenzten Zeitraum gültig ist und daß außerhalb dieser Zeit eine Korrektur an den Grenzwerten vorgenommen werden muß.

Die meisten Sorten, welche wir untersucht haben, können in der Industriegruppe zusammengefaßt werden, die den Grenzwert zwischen  $E_c - 175$  mV und  $E_c - 180$  mV hat. Zu ihr gehören folgende Sorten: „Industrie“, „Direktor Johanssen“, „Magdeburger Blaue“, „Parnassia“, „Zwickauer frühe Gelbe“, „Preußens“, „Magnum bonum“. Mit Vorbehalt können auch die Sorten „Ackersegen“, „Erdgold“ und „Professor Wohltmann“ (schmalblättrig) in diese Gruppe einbezogen werden — soweit die Zahl der einwandfrei gemessenen Knollen dieser Sorten zu einem solchen Schluß berechtigt. Gleichzeitige und spätere Untersuchungen an anderen Sorten, die zahlenmäßig geringeren Umfang hatten, deuteten an, daß auch die Sorten „Maibutter“, „Delbrück“, „Edeltraut“ und „Phönix“ der Industriegruppe angehören.

Zur zweiten Gruppe, der Erstlingsgruppe, die den Grenzwert bei  $E_c - 190$  mV hat, gehört unserer Kenntnis nach nur die Sorte „Erstling“ mit ihren Synonymen „Goldperle“, „Duke of York“ und „Atlanta“.

Die Sorte „Odenwälder Blaue“ ist der Prototyp einer dritten Gruppe, deren Grenzwert noch negativer in der Potentialskala liegt; er ist etwa bei  $E_c - 210$  mV anzunehmen.

### **E. Ist der „Grenzwert“ eine unveränderliche Größe?**

Die Frage der Überschrift dieses Abschnittes hat in ausführlicherer Abfassung folgenden Wortlaut: Ist das Verhältnis des Potentialwertes und des Abbaugrades eines Pflanzgutes im Nachbau an einem bestimmten Nachbauorte so unveränderlich, daß es unabhängig von der Zeit der Potentialmessung festgestellt werden kann?

Es gab zwei Wege, auf denen eine Antwort auf diese Frage zu gewinnen war.

Einmal hätte man die Untersuchungen zur Grenzwertbestimmung, die wir im Abschnitt C beschrieben haben, im Laufe eines Winterhalbjahres in periodischen Abständen wiederholen können, d. h., man hätte die Grenzwertbestimmung einer Sorte mehrfach ausführen und dabei verschiedene Zeiten für die Potentialmessung wählen können.

Der zweite Weg ist einfacher. Wenn sich der Durchschnittswert der Potentialwerte einer Herkunft im Laufe des Winterhalbjahres ändert, dann

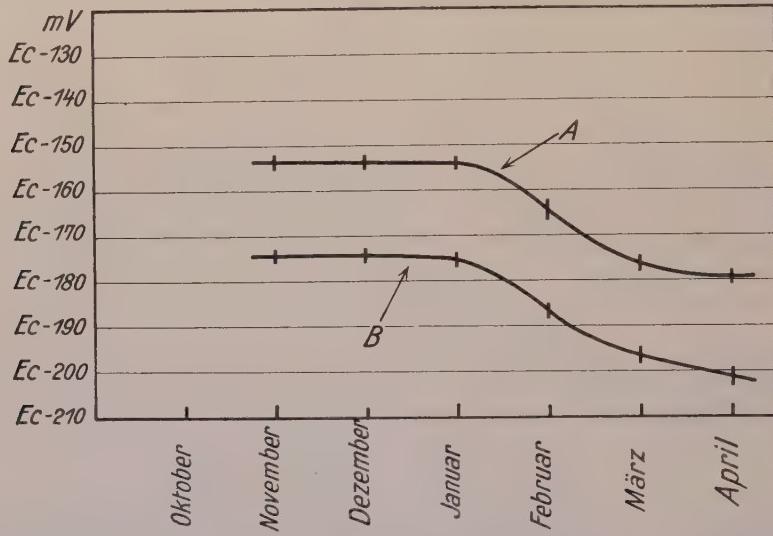
ist anzunehmen, daß sich das Verhältnis des Potentialwertes und des Abbaugrades eines Pflanzgutes ändert, daß sich also auch der Grenzwert ändert.

Hierbei muß vorausgesetzt werden, daß der Krankheitszustand, der Abbaugrad des Pflanzgutes, ein in der Herkunftslage induzierter Zustand ist, der sich während der Winterlagerung nicht verschlimmert und auch nicht verbessert. Diese Voraussetzung birgt eine problematische Fragestellung, denn die vorausgesetzte Unveränderlichkeit des Zustandes ist durch nichts bewiesen. Die eingehende Beweisführung zu dieser speziellen Frage wäre eine Aufgabe gewesen, die uns allein einige Jahre beschäftigt hätte. Obgleich wir sie nicht eingehend behandeln konnten, werden wir sie doch in den nachstehend beschriebenen Versuchen berühren. Wir haben in einem Winterhalbjahr von je zwei Herkünften der Sorten „Direktor Johanssen“ und „Erstling“ in Monatsabständen so viele Knollen zur Messung der Redoxpotentiale ihrer Gewebebreie verarbeitet, daß wir allmonatlich die Variation der Werte jeder Herkunft mit einem geringen Fehler des Mittelwertes erhielten. Dabei wurden nur diejenigen Termine ausgewertet, bei denen ungefähr 90 % der Messungen einwandfreie konstante Potentialwerte ergaben. Letzteres mußte als Bedingung gesetzt werden, weil wir damals noch nicht wußten, ob mit den Halbelementen, die wegen Nichtkonstanz der Potentialwerte nicht zu verwerten waren, eine Selektion kranker oder gesunder Knollen zustande kam. Später haben wir festgestellt, daß noch eine genügend sichere Wertbeurteilung zu machen ist, wenn etwa 60 bis 70 % der Knollen einer Herkunft Halbelemente mit konstanten Potentialwerten ergeben und der Anteil der Nichtkonstanten von der Auswertung ausgeschlossen wird, daß also das Ausschalten der Nichtkonstanten in diesem Rahmen keine Selektion kranker oder gesunder Knollen zuwege bringt.

In der Abbildung 15 ist das Ergebnis der Untersuchungen mit der Sorte „Direktor Johanssen“ dargestellt. Es zeigt, daß mit dem Zeitpunkt, an dem etwa 90 % der Knollen einer Herkunft meßbare Halbelemente ergeben haben (November), zunächst eine Periode einsetzt, die mehrere Monate dauert und in der sich der Mittelwert der Redoxpotentiale einer Herkunft nicht ändert. Dann aber wird der Mittelwert negativer, und zwar verändert er sich monatlich um etwa 10 Millivolt nach negativeren Potentialen. In den Frühjahrsmonaten wird die Veränderung wieder geringer, und die Mittelwerte scheinen sich auf ein tieferes Niveau einzustellen.

Aus der Tatsache, daß das Potentialgebiet der gesunden Herkunft — die auch im Nachbau gesund war — im Frühjahr ungefähr dem Potentialgebiet entspricht, welches die kranke Herkunft im Herbst einnahm, geht hervor, daß die Änderung der durchschnittlichen Potentialwerte nicht auf eine Änderung des Gesundheitszustandes der Herkunft zurückzuführen ist. Dies ist keine Antwort

auf die Frage, ob sich der in der Herkunftsage induzierte Abbaugrad eines Pflanzgutes während der Winterlagerung ändern kann. Die Frage bleibt noch unbeantwortet. Hier handelt es sich lediglich um die Tatsache, daß bei der Beurteilung des Gesundheitszustandes, die man auf Grund des gemessenen Redoxpotentiales vornehmen will, bei den Frühjahrsmessungen ein anderer Maß-



Veränderungen des Mittelwertes der Variation von Redoxpotentialen einer Herkunft während der Winterlagerung. Die Kurve A zeigt eine gesunde und die Kurve B eine kranke Herkunft der Sorte „Direktor Johanssen“. Die einzelnen Punkte der Kurve sind Mittelwerte und die vertikalen Balken zeigen die Reichweiten der mittleren Fehler der betreffenden Mittelwerte.

Abb. 15.

stab angelegt werden muß als bei den Messungen, die in den Wintermonaten ausgeführt werden. Mit anderen Worten: der Grenzwert einer Sorte, der den Festpunkt für die statistische Auswertung der gemessenen Potentiale darstellt, muß in den Frühjahrsmonaten bei negativeren Werten angenommen werden als in den Wintermonaten.

Nach der Darstellung der Abbildung 15 scheinen die Veränderungen der Mittelwerte verschiedener Herkünfte parallel zu gehen. Wenn dies allgemeingültig wäre, dann würde die praktische Verwertung der Methode keine großen Schwierigkeiten haben. Man müßte dann einfach für die Auswertung der Messungen aus den Monaten Februar, März und April Grenzwerte annehmen, die den bekannten Grenzwerten gegenüber 10, 20 und 30 Millivolt negativer liegen.

Daß die tatsächlichen Verhältnisse aber viel schwieriger sein können, geht aus den Darstellungen der Abbildung 16 hervor. Dort zeigt sich, daß der Mittelwert der Redoxpotentiale sich bei der kranken Herkunft der Sorte „Erstling“ in den Monaten Januar und Februar — wenn auch geringfügig — änderte und daß dies bei der gesunden Herkunft kaum merklich war. Die Veränderung geht also nicht in allen Fällen zeitlich parallel. Wahrscheinlich handelt es sich hier um einen Unterschied in der Zeit der Winterruhe. Die gesunde Herkunft stammte aus Ostpreußen und war erst im Dezember zu messen, was für eine Herkunft der Sorte „Erstling“ ein ungewöhnlich später Termin ist. Es sieht so aus, als ob die Änderung des Mittelwertes der Redoxpotentiale bei verschiedenen Herkünften im Verlauf der Winterruhe parallel geht, daß aber durch die zeitliche Verschiebung der Winterruhens verschiedener Herkünfte eine ungleiche Änderung im Zeitverlauf zustande kommt.

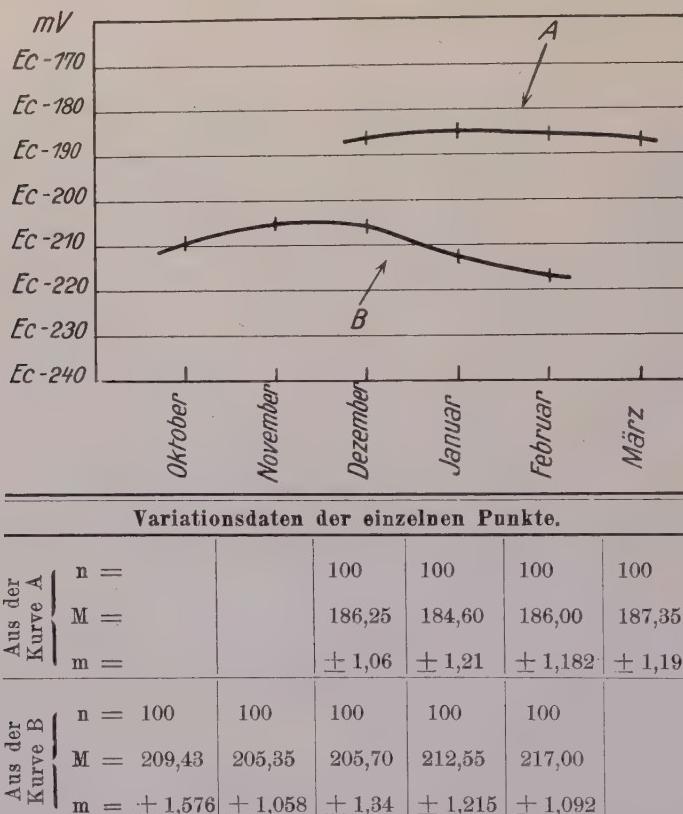
Vergleicht man die Abbildungen 15 und 16, dann ist zu sehen, daß die Veränderung der Mittelwertslage bei den Herkünften der Sorte „Erstling“ nicht so groß war wie bei den Herkünften der Sorte „Direktor Johanssen“. Sie scheint sortentypischen Charakter zu haben.

Diese Andeutungen des herkunftsabhängigen Verlaufes der Winterruhe und der wahrscheinlich sortentypischen Veränderung des Mittelwertes der Redoxpotentiale — also auch der Veränderung des Grenzwertes der Sorte — stellen eine Reihe Aufgaben, die noch zu bearbeiten wären, wenn man die Sicherheit und Genauigkeit des Arbeitens der Methode vervollkommen wollte.

Wenn dagegen die praktische Pflanzgutwertbestimmung auf eine Untersuchungsperiode von etwa Ende Oktober bis Mitte Februar beschränkt werden kann, dann ist sie auf Grund der beschriebenen Grenzwerte auszuführen. In dieser Zeit sind die Veränderungen der durchschnittlichen Redoxpotentiale der Herkünfte so gering, daß die Abweichung von der Vergleichsbasis keine großen Fehler verursachen kann.

Frühere Untersuchungen erreichen nur in seltenen Fällen die erforderlichen Prozentanteile konstanter Potentiale. Werden in der Zeit von Mitte Februar bis Ende April genügende Prozentanteile konstanter Potentiale erreicht, dann können auch diese Untersuchungsergebnisse für Pflanzgutwertbestimmungen ausgewertet werden, wobei aber die Grenzwerte mit fortschreitender Zeit 10, 20 bis 30 Millivolt negativer anzuge-

nehmen sind. Was hier vorgeschlagen wird, ist keine befriedigende exakte Arbeitsweise. Es werden damit aber immerhin praktisch genügende Ergebnisse erzielt, denn der Praktiker ist durchaus zufrieden, wenn man ihm im Winter sagen kann, ob sein Pflanzgut gesund oder mit 20, 40, 60 oder 80 % abgebaut ist. Der Fall der Abbildung 16, daß der Verlauf der Winterruhe einer Herkunft vom gewöhnlichen Verlauf der Winter-



Veränderung des Mittelwertes der Variation von Redoxpotentialen einer Herkunft während der Winterlagerung. Die Kurve A zeigt eine gesunde und die Kurve B eine kranke Herkunft der Sorte „Erstling“. Die einzelnen Punkte der Kurven sind Mittelwerte, und die vertikalen

Balken zeigen die Reichweiten der mittleren Fehler der betreffenden Mittelwerte.

Abb. 16.

ruhe ihrer Sorte stark abweicht, also einen bedeutenden Fehler der Auswertung verursachen muß, wird nach unseren Erfahrungen selten vorkommen. In den meisten Fällen ist eine befriedigende Vergleichsbasis gegeben.

Das Ergebnis der in diesem Abschnitt beschriebenen Untersuchungen besagt, daß die Pflanzgutwertbestimmungen nur in einer verhältnismäßig kurzen Zeit während des Winters mit wünschenswerter Sicherheit aus-

geführt werden können. Die Methode hätte einen viel größeren praktischen Wert, wenn sie auch schon im Herbst anzuwenden wäre. Es sind aber, wie schon gesagt wurde, meistens erst Ende Oktober genügend konstante Potentiale zu erzielen, die eine Auswertung erlauben.

Aus der Abbildung 16 könnte man entnehmen, daß die Mittelwerte der Potentiale im Verlauf der Zeit eine Maximumkurve beschreiben, d. h., daß sie nicht allein im Frühjahr fallen, sondern auch im Herbst steigen. Dies ist eine zufällige Andeutung, die nicht mit den tatsächlichen Verhältnissen übereinstimmt. Der leichte Abfall des linken Teiles der Kurve A liegt noch in der Reichweite der Mittelwertfehler. Zwischen dem Oktober- und Novembermittelwert der Kurve B ist eine gesicherte Differenz von etwa 1,5 Millivolt, so daß der Abfall des linken Teiles der Kurve kein statistischer Fehler ist. Worauf er zurückzuführen ist, war nicht festzustellen. Jedenfalls ist er eine Ausnahme, weil die Mittelwerte der Redoxpotentiale allgemein vom Herbst bis zur Zeit der gleichbleibenden Mittelwerte nicht steigen, sondern fallen. Wir hatten bei diesen Untersuchungen zufällig auch die August- und Septembermittelwerte der Kurve B festgestellt. Sie lagen mit der Andeutung eines leichten Abfalles zwei bis drei Millivolt über dem Mittelwert des Novembers, wurden aber für die vorliegende Darstellung nicht verwertet, weil das Knollenmaterial nur 39 bzw. 68 Prozentanteile konstanter Potentiale ergab. Bei anderen Sorten haben wir in den Herbstmonaten einen viel stärkeren Abfall der Mittelwerte gefunden. Wir wollen diese Frage aber nicht näher behandeln, weil wegen der geringen Anzahl Knollen, mit denen meßbare Halbelemente herzustellen waren, kein gesichertes Ergebnis erzielt wurde.

#### F. Ist der „Grenzwert“ eine relative Größe?

Es ist bekannt, daß der Aufwuchs des Pflanzgutes einer Herkunft an verschiedenen Nachbauorten mit unterschiedlichen Abbaugraden in Erscheinung treten kann. Die Erfahrungen dieser Unterschiede beruhen nicht darauf, daß das Pflanzgut qualitativ ungleich auf die verschiedenen Nachbauorte verteilt wurde. Ziegler (8) zeigte vielmehr eine Reihe sich regelmäßig wiederholender Fälle, die die Grundlagen zu seiner Theorie von der „Korrespondenz der Lagen“ waren. Wir werden dieses Thema einmal in einer anderen Veröffentlichung anhand unserer Erfahrungen ausführlicher behandeln. Hier wollen wir nur so weit darauf eingehen, als es zur Klarstellung der Problemlage notwendig ist.

Zunächst muß man den erzielbaren Ertrag und den Gesundheitszustand eines Pflanzgutes voneinander unterscheiden. Bringt man ein gesundes Pflanzgut, welches aus einer streng humiden Herkunftsfrage mit normalen humiden Bodenverhältnissen stammt, in eine verhältnismäßig aride Abbaulage, dann kann es einen Aufwuchs geben, der in der Frühzeit der Vegetation gesund ist, der aber im ersten Anbaujahr so leidet,

daß die Ernte geringer ausfällt als bei einem Pflanzgut, das schon mit etwa 10 bis 20 % krank war. Dieser Fall ist für einen guten Beobachter leicht zu erkennen. Andere Fälle sind schwieriger.

Es kann vorkommen, daß eine Sorte in einer Abbaulage im zweiten Nachbaujahr einen Bestand von etwa 60 % kranken Pflanzen erreicht, aber, vergleichsweise in einer anderen Abbaulage ausgepflanzt, einen viel geringeren Prozentsatz aufzuweisen hat. Auch beim gegenseitigen Pflanzgutwechsel zwischen zwei Abbaulagen kann dies in Erscheinung treten. Beim vergleichsweisen Nachbau mehr oder weniger gesunden Pflanzgutes in seiner Herkunfts Lage und in einer Lage, wo es schnell abbauen wird, sind sofort nach dem Wechsel die Krankheitsprozente in der letzteren durchschnittlich höher als in der Herkunfts Lage. In manchen Fällen sind gleiche Prozente auszuzählen und in einzelnen Fällen können auch umgekehrte Verhältnisse auftreten.

Die Ursachen der „Korrespondenz der Lagen“ wirken sich nach unseren Erfahrungen im Großen und Ganzen nie so aus, daß eine sehr kranke Herkunft in irgendeiner Lage einen absolut gesunden Nachbau geben könnte, oder daß eine gesunde Herkunft in ihrer Herkunfts Lage einen gesunden Aufwuchs, aber gleichzeitig in einer anderen Lage einen erheblichen Krankheitsbefall zeigen würde. Soweit geht die Unregelmäßigkeit nicht. Es ist aber eine Tatsache, daß die Erscheinungen des Krankheitsbefalles, die man als Anteile kranker Pflanzen des Bestandes auszählen kann, je nach den Verhältnissen des Nachbauortes Unterschiede aufweisen können, welche nicht auf qualitativ ungleiche Verteilung des Pflanzgutes zurückzuführen sind.

Der Zustand der Knolle ist also kein Ursachenfaktor, der allein den Abbaugrad des Nachbaubestandes realisiert. Er hat einen großen, ja vorherrschenden Einfluß darauf, aber man muß immer mit einer gewissen Modifikabilität des kommenden Geschehens rechnen. Wie sich diese Umstände auch in ein und derselben Abbaulage auswirken können und wie dabei gewisse Sorteneigentümlichkeiten in Erscheinung treten, wollen wir an Folgendem beispielsweise erläutern. Wir verwenden dabei die Variabilitätsreihe der Redoxpotentiale als Vergleichsmaßstab, weil sie vorläufig die einzige Richtlinie für eine vergleichende kritische Betrachtung der Erscheinungen ist. Es gibt ja vorläufig keinen anderen Wertmaßstab, an dem der Zustand der Kartoffelknolle zu charakterisieren wäre.

Bei den Sorten „Industrie“ und „Direktor Johanssen“ steigt der Krankheitsbefall mit fortschreitendem Potentialabfall sowohl in der Häufigkeit wie in der Stärke der Auswirkung so schnell, daß der Spielraum der Potentialwerte, in welchem kranke Pflanzen beobachtet werden können, nicht groß ist. Die kranken Pflanzen reagieren auch wenig auf günstigere Umweltsbedingungen, die in niederschlagsreicheren Zeiten auf dem Versuchsfeld in Dahlem bei anderen Sorten festzustellen sind.

Ein anderer Typ ist die Sorte „Odenwälder Blaue“. Obwohl sie in der Abbildung 14 auch mit einem verhältnismäßig scharf ausgeprägten Grenzwert dargestellt ist, was das Ergebnis des dargestellten Versuches war, so wissen wir doch aus den Erfahrungen, die wir mit anderen Versuchen machen konnten, daß die Pflanzgutwertbestimmungen an Vertretern dieser Sorte leicht zu ungenauen Voraussagen führen. Bei der „Odenwälder Blaue“, deren Abbaubild vom Blattrollen beherrscht wird, ist der Übergang von gesund zu krank nicht so plötzlich wie etwa bei der Sorte „Industrie“, sondern mehr fließend. Mit abfallenden Potentialwerten steigt die Verkümmерung der Staudentracht, und der Spielraum der Potentialwerte, in welchem kranke Pflanzen beobachtet werden können, nimmt — wie es auch in der Abbildung 14 zum Ausdruck kommt — eine ziemlich weite Spanne der Skala ein. Die Knollen mit extrem tiefen Potentialwerten geben unter allen Umständen im Nachbau einen kranken Aufwuchs. Anders ist es mit den Knollen, deren Potentialwerte der „kritischen Zone“ näher liegen. Mit diesen kann man selbst auf dem Dahlemer Versuchsfeld, dem Prototyp der Abbaulagen, Überraschungen erleben. Je nach der Witterungskonstellation der ersten Zeit des Wachstums wird aus der Staude entweder ein fußhoher Kümmerling oder eine vollwüchsige Pflanze, die erst verhältnismäßig spät — mit Grundrollen beginnend — ein Blattroller wird.

Die Sorte „Parnassia“ ist auch in dieser Hinsicht ein dritter Typ. Ihre abbaukranken Herkünfte können in der Mitte der Vegetationszeit eine Sammlung aller Krankheitsbilder des Abbaues sein und können nach dem Einsetzen des mehr kühlfeuchten Wetters der späteren Zeit der Vegetation noch einen geschlossenen Bestand bilden, der bei oberflächlicher Betrachtung gesund zu sein scheint. Dies ist nicht allein darauf zurückzuführen, daß die verhältnismäßig gesunden Pflanzen das Feld überwuchern und die schwerkranken Kümmerlinge überdecken. Auch die kranken Pflanzen bilden neue, äußerlich vollkommen gesunde Adventivsprosse, welche die Staudentracht zum Aussehen gesunder Pflanzen verändern. Sogar strichelkranke Pflanzen können aus den Blattachseln trocken herabhängender Blätter gesunde Adventivsprosse bilden.

Bei dieser Plastizität des Objektes, bei dieser Abhängigkeit von den Bedingungen am Nachbauorte kann selbstverständlich auch die denkbar beste Methode der Pflanzgutwertbestimmung nur einen bedingten Wert haben, wenn man mit ihr das kommende Geschehen voraussagen will. Das kommende Geschehen am Nachbauorte ist zwar zu einem großen Teil von dem feststellbaren Zustand der Pflanzknolle, aber auch von den nicht vorauszusehenden Bedingungen des Nachbauortes abhängig. Es ist deshalb aus der Sache heraus bei der Pflanzgutwertbestimmung nur ein Zustand der Pflanzknolle zu nennen und seine Bedeutung für den Nachbau nur mit der Annahme einer im

Rahmen eines gewissen Spielraumes möglichen Abweichung zu erwarten.

Wenn die Nachbaubedingungen und ihr Zusammenwirken mit dem Zustand der Pflanzknolle für alle Fälle in Erfahrung zu bringen und in ein Ordnungsschema einzureihen wären, dann könnte man die Untersuchungen weiter treiben und die statistischen Bezugswerte der Pflanzgutwertbestimmung, die kritische Zone mit dem Grenzwert, den Nachbaubedingungen jeweils mit Korrekturzahlen anzupassen versuchen. Es gibt aber viele unkontrollierbare, zufällige Bedingungen des Nachbauortes, die man nicht voraussehen und darum nicht in die Rechnung stellen kann. Wir dürfen daher auch die Größen, mit denen bei der Berechnung des Pflanzgutwertes einer Herkunft als Grenzwert und Ausmaß der kritischen Zone zu arbeiten ist, nicht nach unterschiedlichen Wirkungen des Nachbauortes variieren.

#### **G. Die statistische Berechnung des Pflanzgutwertes einer Herkunft aus der Variation der Redoxpotentiale der Gewebebreite ihrer Knollen.**

Der bisherige Inhalt der vorliegenden Abhandlung zeigt, daß der Gesundheitszustand, der Pflanzgutwert, einer Knolle mit großer Wahrscheinlichkeit anhand des Redoxpotentiales ihres Gewebebreies beurteilt werden kann. In welcher Weise ist nun eine Herkunft, also eine größere Anzahl von Knollen, zu beurteilen?

Herkünfte sind Populationen, die alle möglichen Anteilsverhältnisse zwischen 100 vom Hundert gesund und 100 vom Hundert krank enthalten können. Der Unterschied zwischen gesund und krank äußert sich nicht durch das Alternieren zweier bestimmter Werte, sondern durch unterschiedliches Variieren in einer Zahlenreihe, die durch die Skala der Redoxpotentiale gegeben ist (vgl. Abb. 12 bis 14). Es ist deshalb zu erwarten, daß die Variation der Redoxpotentiale einer Herkunft in der Form einer Zufallskurve über der Redoxskala spielt. Das Anteilsverhältnis gesunder und kranker Knollen ist dann davon abhängig, wie viele Varianten sich jeweils in den Wertgebieten der Potentiale kranker und gesunder Knollen und innerhalb der Grenzen der kritischen Zone häufen. Die Berechnung der Anteile einer Herkunft ist darum nur mit einer Anzahl Individuen möglich, die die ganze Variation der Population erfaßt.

Die richtige Entnahme der Untersuchungsprobe ist die erste und wichtigste Voraussetzung. Um eine richtige Pflanzgutwertbestimmung ausführen zu können, muß man die Sicherheit haben, daß das zu untersuchende Knollenmaterial, die Herkunftsprobe, die Variabilität der Herkunft vertreten kann. Das Anteilsverhältnis gesunder und kranker Knollen des Untersuchungsmateriale muß mit dem Anteilsverhältnis des als

Pflanzgut zu verwendenden Herkunftsmaterials übereinstimmen. Die Herkunftsprobe darf also nicht an einer beliebigen Stelle der Kartoffelmiete oder des Kartoffelkellers entnommen werden, sondern muß aus vielen kleinen Proben, die an vielen Stellen entnommen sind, zusammengesetzt sein<sup>1)</sup>.

Die Anzahl Knollen, welche als Probe der Herkunft entnommen und untersucht werden, ist von der Lage des Streuungsraumes und von der Streuungsbreite der Potentialwerte der Herkunft abhängig. Letztere ist selbstverständlich vor der Untersuchung nicht bekannt. Man muß deshalb bei der Entnahme der Untersuchungsprobe eine Anzahl Knollen fassen, die für den Fall der ungünstigsten Erwartung ausreicht. Es sind dies erfahrungsgemäß etwa 150 Knollen.

Zunächst sind aber nur 40 Knollen für die Pflanzgutwertbestimmung zu Halbelementen zu verarbeiten. Diese Anzahl gibt mit praktisch genügender Sicherheit eine Andeutung des Spielraumes (Variationsgrenzen) der Potentialwerte der betreffenden Herkunft. Liegt der gefundene Spielraum außerhalb der kritischen Zone im Potentialbereich gesunder oder im Potentialbereich kranker Knollen, dann darf man mit Sicherheit annehmen, daß die Herkunft 100% gesunde oder 100% kranke Knollen enthält. Es ist dann überflüssig, eine größere Anzahl Knollen zu untersuchen. Je näher aber der zu erwartende Mittelwert der Varianten dem Grenzwert der betreffenden Sorte liegt, desto genauer muß man die ganze Variation der Potentialwerte einer Herkunft zu erfassen suchen, d. h., es müssen noch so viele Knollen zusätzlich verarbeitet werden, daß der mittlere Fehler des zu errechnenden Mittelwertes auf ein Maß herabgesetzt wird, das ein weitgehendes Erfassen der Variation anzeigen.

Mit dem Vorschlag, zu der ersten Serie von 40 Knollen so viel Knollen zusätzlich zu verarbeiten, daß die erforderliche Anzahl erreicht wird, ist dem Untersuchenden schlecht gedient, denn er hat zunächst keine Vorstellung von der Anzahl, die er zusätzlich verarbeiten muß. Auch dann, wenn man die Ergebnisse sofort in graphischen Aufzeichnungen übersichtlich darstellt, ist es schwierig, die Anzahl der erforderlichen Knollen zu ermitteln. Sie läßt sich aber als angenäherten Wert aus der gefundenen, d. h. angedeuteten, Variationsbreite errechnen. Das Quadrat des fünften Teiles der Variationsbreite ist die Anzahl Varianten, deren mittlerer Fehler des Mittelwertes nicht größer als 1 sein kann.

Die Berechnungsart ist folgendermaßen abgeleitet. Es ist vorausgesetzt, daß sich die Variation mit zunehmender Variantenzahl einer binomialen Verteilung nähert, deren Streuungsbreite sich mit der gefundenen angedeuteten Streuungsbreite deckt. Bei einer idealen binomialen

<sup>1)</sup> Auf die Schwierigkeiten der Entnahme von Untersuchungsproben kommen wir weiter unten noch einmal zurück.

Verteilung besteht zwischen der Streuungsbreite und dem mittleren Fehler des Mittelwertes folgende Beziehung:

$$m = \frac{\frac{1}{7}x}{\sqrt{n}}$$

( $X$  = Variationsbreite;  $\frac{1}{7}x = \sigma$ , weil  $M \pm 3,5\sigma$  alle Varianten der idealen Verteilungskurve einschließt).

Fordert man den zu erreichenden kleinen mittleren Fehler des Mittelwertes mit der Größe 1, dann ist

$$\frac{1}{7}x = \sqrt{n} \text{ und } n = \left(\frac{1}{7}x\right)^2$$

Die Variationsgrenzen  $M \pm 3,5\sigma$  sind Kennziffern der Variation, deren genaue Werte nur mit einer sehr großen Variantenzahl empirisch gewonnen werden können. Wir beginnen also unsere Berechnung der erforderlichen Variantenzahl mit den unsichersten Faktoren der Variationsstatistik. Die angedeutete Variationsbreite  $x$  ist aber der einzige Anhaltspunkt, der als Grundlage einer solchen Berechnung zur Verfügung steht. Außerdem handelt es sich hier ja nicht um die mathematische Sicherung eines Tat-sachenbefundes, sondern um einen Voranschlag, ein methodisches Hilfsmittel, dessen eventuelle Fehler nach der Ausführung der zusätzlichen Messungen unweigerlich in Erscheinung treten müssen und durch weitere zusätzliche Messungen verbessert werden können. Es ist zur Sicherung des Voranschlages zweckmäßig, nicht die Proportion des idealen Binomiums,  $\frac{1}{7}x = \sigma$ , sondern das Verhältnis  $\frac{1}{5}x = \sigma$  zu verwenden. Mit dieser Sicherung werden zwei Möglichkeiten in dem Voranschlag berücksichtigt, die manchmal aus der angedeuteten Variationsbreite nicht zu erkennen sind. Erstens kann die Verteilungskurve zweigipflig sein, was eine größere Variantenzahl erfordert, und zweitens wird mit der veranschlagten Variantenzahl dann auch eine erheblich größere als die angedeutete Variationsbreite erfaßt.

Wir haben gefunden, daß die Häufigkeitskurven der Redoxpotentiale sortenreiner Herkünfte sich in den meisten Fällen der Form idealer Binomialkurven nähern. Die Andeutung einer Zweigipfligkeit ist eine seltene Ausnahme. In manchen Fällen zeigt sich eine Schiefe, d. h., in manchen Fällen liegt das Maximum im Gebiet der Minus- oder der Plus-varianten. Wenn der Voranschlag der erforderlichen Variantenzahl nach der Formel  $\left(\frac{1}{5}x\right)^2$  berechnet wird, dann ist auch die Variation mit einseitiger Häufung der Varianten genügend sicher zu erfassen.

Aus der Lage der Variationskurve über der Redoxskala und aus der Häufung der Varianten in den Wertgebieten, die durch die Grenzen der

„kritischen Zone“ unterteilt sind, wird der Pflanzgutwert einer Herkunft berechnet. In der Tabelle 1 des nachfolgenden Teiles der Abhandlung sind die Pflanzgutwerte der Herkünfte in drei Prozentsätzen angegeben. Der erste Prozentsatz bezeichnet den Anteil gesunder Pflanzen, die im Nachbau zu erwarten sind. Es ist dies der Anteil der Knollen, deren Redoxpotentiale im Bereich der Werte gesunder Knollen gefunden wurden. Der zweite Prozentsatz, der unter der Bezeichnung „kritisch“ aufgeführt ist, nennt den Anteil der Knollen, deren Redoxpotentiale sich in den Bereich der kritischen Zone einreihen ließen. Der dritte Prozentsatz ist schließlich der Anteil der Knollen, deren Redoxpotentiale im Bereich des Wertgebietes kranker Knollen gefunden wurden.

#### H. Ergebnisse der Pflanzgutwertbestimmungen von Kartoffelherkünften.

Wir haben im Laufe der letzten Jahre viele Herkunftsproben untersucht; aber nur bei einem Teil der Untersuchungen hatten wir die Gelegenheit, den Nachbau der Herkünfte im Feldbestand zu bonitieren. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wollen wir zum Vergleich des potentiometrisch ermittelten Pflanzgutwertes und des Feldbestandbefundes heranziehen. Es werden dabei nicht nur diejenigen Versuche berücksichtigt, denen wegen reiferer Erfahrungen eine gewisse Vollkommenheit in der Handhabung der Methode zugrunde lag.

Oben haben wir besprochen, wie die Anzahl der Knollen zu ermitteln ist, mit der die Übereinstimmung der Variation der Probe und der Variation des Gesamtmaterials gesichert ist. Dieses Verfahren setzt voraus, daß die kranken Knollen in dem Gesamtmaterial gleichmäßig verteilt sind. Wenn es nicht der Fall ist, wenn, grob gesprochen, z. B. die 10 % kranke Knollen der Ernte eines Bestandes in der einen Hälfte der Miete liegen und die andere Hälfte der Miete nur gesunde Knollen enthält, dann kann man aus der letzteren so viele Knollen entnehmen und untersuchen, wie man will, ohne jemals auf eine kranke zu stoßen. Solche extremen Fälle werden wahrscheinlich nicht häufig vorkommen, aber sie zeigen die Schwierigkeit der Dinge, die man sich auch schon an einem Feldbestand klarmachen kann.

Eine Herkunftsprobe, die willkürlich der Miete oder dem Kartoffelkeller entnommen wird, ist ebenso ein zufälliger Bestandteil des Gesamtmaterials, wie etwa ein Korb voll Pflanzkartoffeln, dessen Inhalt im Nachbau in einer Reihe ausgepflanzt wird. Zählt man in einer Pflanzreihe den Anteil der kranken Pflanzen, dann braucht er nicht mit den Befallprozenten des ganzen Feldbestandes übereinzustimmen. Das Auszählen einer anderen Reihe kann ein ganz anderes Ergebnis haben. Man kann bei der Auswertung eines Feldbestandes die Schwierigkeit umgehen, indem man möglichst viele Stichproben macht und aus diesen den Mittelwert errechnet. Auch für die Probeentnahme der Pflanzgutwertbestimmung

läßt sich auf der Grundlage der Wahrscheinlichkeitsrechnung eine einwandfreie Art ermitteln. Wir werden einen restlos befriedigenden, praktischen Erfolg in diesen Dingen aber erst dann erleben, wenn bei der Aufstellung der Richtlinien zur Probeentnahme nicht nur die theoretisch begründeten Forderungen, sondern auch dasjenige in die Rechnung zu stellen ist, was in der Praxis wirklich ausgeführt werden kann.

Die Probeentnahme soll noch unabhängig von der Fragestellung der vorliegenden Abhandlung bearbeitet werden. Man wird auch mit jeder anderen Methode der Pflanzgutwertbestimmung auf ihre Schwierigkeiten stoßen, sobald die Ausarbeitung der Methode so weit gediehen ist, daß praktische Aufgaben in Angriff genommen werden können.

Die Pflanzgutwertbestimmungen, welche hier besprochen werden, sind an einem Material ausgeführt worden, das wir uns als größere Proben beschafften oder aus unseren eigenen Herkunftsversuchen gewonnen haben. Jeder Herkunftsprobe wurde eine Durchschnittsprobe für die elektrometrischen Untersuchungen entnommen. Der Rest des Herkunftsmaterials — 200 bis 400 Knollen je Herkunft — ist dann ausgepflanzt und im Feldbestand bonitiert worden. Eine Anzahl Herkünfte konnten wir auch in größeren Feldbeständen auswerten.

In 229 solcher Fälle hatten wir Gelegenheit, Herkunftsuntersuchungen im Laboratorium auszuführen und mit Feldbestandsbonitierungen zu vergleichen. Es ist leider nicht möglich, alle Einzelfälle in einer Tabelle zu zeigen. Wir müssen uns für die Veröffentlichung mit einer Anzahl Stichproben begnügen, die ohne besondere Auswahl zufallsmäßig aus den Aufzeichnungen herausgegriffen wurden. Die Tabelle 1 enthält 62 Vergleiche der potentiometrisch bestimmten Pflanzgutwerte von Herkünften verschiedener Sorten mit den Befunden der Feldbestände.

Bei allen acht Sorten der Tabelle 1 ist zu sehen, daß sich mit steigender Krankheitsziffer des Feldbestandes das Schwerpunktgewicht des Zahlenverhältnisses der Pflanzgutwertbestimmung in der Richtung zur Spalte „krank“ verschiebt. Im Einzelnen gibt es ein paar Ausnahmen, die sich zahlenmäßig unvollkommen in den Rahmen des Ganzen fügen. Bei der Beurteilung der Dinge muß man, abgesehen von der Frage der Probeentnahme, aber berücksichtigen, daß bei der Bonitierung des Feldbestandes einfach nur „gesund“ und „krank“ unterschieden worden sind. Wir haben es vermieden, bei der Bonitierung noch die Stärke des Krankheitsbefalles der kranken Pflanzen zu unterscheiden, weil es ein sehr unsicheres Operieren mit Zahlen ist. In Wirklichkeit trafen die Pflanzgutwertbestimmungen manchmal besser den Zustand des Feldbestandes, als es in dem Vergleich mit den Bonitierungszahlen zum Ausdruck kommt. Z. B. waren die laufenden Nummern 60, 61 und 62 ein-, zwei- und dreijähriger Dahlemer Anbau der Sorte „Parnassia“. Die Sorte gibt in der Reihe der Nachbaustufen nicht allein eine schöne Stufenfolge in der zu-

Tabelle 1.

**Vergleich der potentiometrisch ermittelten Pflanzgutwerte von Kartoffelherkünften mit den Befunden im Feldbestand. Die Pflanzgutwerte sind aus den Variationen der Redoxpotentiale der Knollengewebebereie errechnet.**

Lfd. Nr.	Bezeichnung der Herkunft	Anzahl der gemessenen Knollen- gewebebereie	Potentiometrisch ermittelter Pflanzgutwert in Prozenten			Befund im Feldbestand in Prozenten kranker Pflanzen
			gesund	kritisch	krank	
Sorte „Erstling“						
1	45/46 . . . . .	100	85	9	6	3
2	41/42 . . . . .	100	83	13	4	5
3	81/82 . . . . .	100	64	21	15	9
4	73/74 . . . . .	100	56	31	13	11
5	67/68 . . . . .	100	59	29	12	13
6	35/36 . . . . .	100	89	9	2	14
7	8/9 . . . . .	89	49	42	9	18
8	63/64 . . . . .	100	54	36	10	21
9	69/70 . . . . .	100	59	29	12	23
10	59,60 . . . . .	100	70	20	10	25
11	13/14 . . . . .	97	54	33	13	29
12	5 . . . . .	100	54	35	11	34
13	10 . . . . .	100	26	51	23	48
14	15 . . . . .	100	27	41	32	68
15	20 . . . . .	100	3	15	82	82
16	93/94 . . . . .	100	6	23	71	91
17	95/96 . . . . .	100	5	14	81	97
18	18 . . . . .	100	0	6	94	100
Sorte „Odenwälder Blaue“						
19	Sta 33 . . . . .	203	79	18	3	2
20	Sta 34 . . . . .	100	57	35	8	8
21	Lob 34 . . . . .	100	55	35	10	10
22	Schön. 33 . . . . .	60	70	25	5	12
23	Ascher 33 . . . . .	102	64	21	15	14
24	Ascher 34 . . . . .	100	22	30	48	21
25	Groß-Z. 33 . . . . .	100	54	30	16	25
26	Sta/Da 34 . . . . .	100	4	12	84	76
27	Da II 34 . . . . .	100	2	7	91	93
28	Da IV 34 . . . . .	100	0	8	92	100
Sorte „Industrie“						
29	Lob. 33 . . . . .	73	67	30	3	7
30	Schla 34 . . . . .	100	66	28	6	12
31	Sta 33 . . . . .	76	43	48	9	19
32	Sta 34 . . . . .	100	37	48	15	20
33	Ascher 34 . . . . .	100	21	41	38	56
34	Da I 33 . . . . .	48	21	35	44	81
35	Ascher/Da 34 . . . . .	100	0	11	89	88
36	Da II 34 . . . . .	100	0	8	92	100
Sorte „Erdgold“						
37	D. Wust. 33 . . . . .	40	42	40	18	20
38	Joach. 33 . . . . .	100	45	36	19	30
39	Albertsh. 33 . . . . .	100	24	51	25	49
Sorte „Preußen“						
40	Ribbecksh. 33 . . . . .	100	45	45	10	25
41	Kl. Z. 33 . . . . .	100	35	45	20	35
42	Albertsh. 33 . . . . .	60	25	53	22	39

Lfd. Nr.	Bezeichnung der Herkunft	Anzahl der gemessenen Knollen- gewebebreie	Potentiometrisch ermittelter Pflanzgutwert in Prozenten			Befund im Feldbestand in Prozenten kranker Pflanzen
			gesund	kritisch	krank	
Sorte „Direktor Johanssen“						
43	Me 33 . . . . .	96	67	24	9	9
44	Ascher 33 . . . . .	76	65	32	3	13
45	Lob 34 . . . . .	100	47	40	13	22
46	Sta/Da 34 . . . . .	100	8	48	44	78
47	Ascher/Da . . . . .	100	8	48	44	94
48	Da III 34 . . . . .	100	0	2	98	100
Sorte „Magnum bonum“						
49	Sta 33 . . . . .	117	44	49	7	16
50	Lob 33 . . . . .	130	31	46	23	26
51	Ascher 33 . . . . .	93	11	54	35	47
52	Ascher 34 . . . . .	100	14	36	50	95
53	Me/Da 34 . . . . .	100	0	2	98	100
54	Da II 34 . . . . .	100	0	1	99	100
Sorte „Parnassia“						
55	Me 33 . . . . .	144	90	9	1	2
56	Ganh. 34 . . . . .	100	59	32	9	7
57	Ascher 33 . . . . .	112	54	37	9	10
58	Lob 34 . . . . .	100	37	38	25	24
59	Ascher 34 . . . . .	100	25	38	37	52
60	Da 33 . . . . .	97	27	37	36	81
61	Da II 33 . . . . .	89	3	39	58	100
62	Da III 34 . . . . .	100	0	10	90	100

nehmenden Anzahl kranker Pflanzen, sondern auch in der zunehmenden Stärke des Krankheitsbefalles der kranken Pflanzen. Die Dahlemer Parnassianachbaustufen sind seit Jahren regelmäßig wiederkehrende Erscheinungen, die man mit größter Sicherheit erwarten kann. Die Zahlenverhältnisse der Pflanzgutwertbestimmungen der laufenden Nummern 60, 61 und 62 geben ein besseres Bild der tatsächlichen Zustände als die Krankheitsziffern des Feldbestandes, in welchen die Abstufungen in der Stärke des Krankheitsbefalles nicht zum Ausdruck kommen. In einem anderen Falle kam es vor, daß eine Herkunft, die ganz gut im Wuchs stand, eine hohe Krankheitsziffer des Feldbestandes erhielt, weil verhältnismäßig viele Pflanzen Mosaikerscheinungen zeigten. Der potentiometrisch ermittelte Pflanzgutwert einer solchen Herkunft ist dann mehr dem allgemeinen Zustand als dem zwar hohen, aber verhältnismäßig harmlosen Mosaikbefall angepaßt. Die zahlenmäßige Auswertung der Krankheit eines Feldbestandes ist eben — man kann die Sache anfassen, wie man will — in keiner Weise befriedigend. Man muß zufrieden sein, wenn man nach der Auswertung solcher Versuche in der großen Reihe eine klare Beziehung hat.

Um das Ergebnis der Untersuchungen in ein paar leicht übersehbare Zahlenwerte zusammenfassen zu können, haben wir die Gruppe „kritisch“

für jeden Einzelfall unserer 229 Vergleichsmöglichkeiten in die Gruppen „gesund“ und „krank“ verteilt; d. h., die Anzahl der Gruppe „kritisch“ wurde auf Grund des Anteilverhältnisses der beiden anderen Gruppen geteilt und die anfallenden Teile jeweils zur Anzahl der betreffenden Gruppe addiert. In dieser Weise kann der Pflanzgutwert mit einer Zahl des Prozentanteiles der kranken Pflanzen genannt werden, die mit der Zahl des Feldbestandbefundes statistisch zu vergleichen ist. Letzterer ist ja auch nur mit dem Prozentanteil der kranken Pflanzen oder seinem reziproken Wert, dem Prozentanteil der gesunden Pflanzen, zu nennen.

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß der Durchschnitt der potentiometrisch ermittelten Pflanzgutwerte mit dem Durchschnitt der Befunde im Feldbestand gut übereinstimmt. Der Korrelationskoeffizient  $r = +0,901$  zeigt, daß nicht allein eine Ähnlichkeit der Variabilität, sondern auch eine weitgehende Korrelation der Varianten vorhanden ist.

Tabelle 2.  
Statistischer Vergleich von 229 Pflanzgutwertbestimmungen  
mit den Befunden im Feldbestand.

	Mittelwert der Prozente kranker Pflanzen	Mittlerer Fehler des Mittelwertes	Standard- abweichung	Korrelations- koeffizient	Mittlerer Fehler des Korrelations- koeffizienten
Pflanzgutwert nach der Aufteilung der Gruppe „kritisch“ .	36,93	± 2,22	± 33,67	+ 0,901	± 0,0125
Befund im Feld- bestand. . . . .	34,90	± 2,13	± 32,24		

Die verglichenen Zahlenwerte variieren zwischen 0 und 100. Wenn die Durchschnittswerte der yorausgesagten Krankheitsprozente und der Befunde übereinstimmend die Zahl 50 hätten, dann wäre damit kein Beweis geführt; denn zwei Variationsareale dieser Art können auch dann übereinstimmend den Mittelwert 50 haben, wenn zwischen den Varianten des einen und des anderen Areales keine Beziehungen bestehen. Sind die übereinstimmenden Mittelwerte aber geringer oder größer als 50, dann muß eine Beziehung vorhanden sein. Je mehr die Mittelwerte vom Wert 50 abweichen, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit einer Identität der Varianten beider Areale. Daß dem Wert einer Variante des einen Areales ein ähnlicher Wert der Vergleichsvariante des anderen Areales tatsächlich entspricht, wird durch den Korrelationskoeffizienten in Verbindung mit den beiden Mittelwerten bewiesen. Der Korrelationskoeffizient allein kann dies nicht beweisen. Er könnte den gleichen Wert haben, wenn unsere berechneten Pflanzgutwerte zwischen 0 und 50% und die Werte der

Befunde zwischen 50 und 100% variieren würden und nur in der Verteilung der Werte eine Beziehung derartig vorhanden wäre, daß dem Steigen in der einen Reihe ein ähnliches Steigen in der anderen Reihe entspräche.

Mit den Variationskurven der Abbildungen 12, 13 und 14 konnten wir unter Beweis stellen, daß eine Beziehung zwischen dem Redoxpotential des Gewebebreies einer Knolle und ihrem Pflanzgutwert besteht, und mit den Zahlenwerten der Tabelle 2 ist bewiesen, daß das Variationsbild der Redoxpotentiale einer Herkunft mit größter Wahrscheinlichkeit als Kennzeichen des Pflanzgutwertes der Herkunft angenommen werden kann.

Auf Grund der Tatsache, daß die statistische Übersicht (Tabelle 2) eine befriedigende Übereinstimmung der potentiometrisch ermittelten Pflanzgutwerte und der Befunde im Feldbestand ergeben hat, sollte man annehmen, daß es angängig sei, bei jedem einzelnen Fall der Pflanzgutwertbestimmung einer Herkunft die Gruppe „kritisch“ anteilig in die Gruppen „gesund“ und „krank“ aufzulösen.

Wir haben es aus folgenden Gründen nicht getan und möchten auch allgemein davon abraten. Man kann tatsächlich sagen, daß in vielen Fällen eine annähernd richtige „Prognose“ getroffen wird, wenn man die Gruppe „kritisch“ in die Gruppen „gesund“ und „krank“ auflöst. Es stimmt gewöhnlich bei verhältnismäßig gesunden und bei stark kranken Herkünften. Die Aufteilung kann aber bei Herkünften mit mittlerem Krankheitsbesatz Fehler verursachen, weil gerade bei diesen Herkünften der Zustand des Nachbaues sehr von den Nachbaubedingungen abhängig ist.

Andererseits möchten wir die Auffassung vermeiden, man könnte das, was im nächsten Jahr auf dem Acker zu sehen sein wird, mit mathematischer Genauigkeit voraussagen. Der Phytopathologe ist kein Prophet. Er kann bestenfalls mit Berechtigung auf Grund der Beobachtung einer Entwicklung die allgemeine Tendenz der Weiterentwicklung vermuten, er kann auch einen Zustand des Objektes feststellen und sagen, welche Rolle dieser Zustand auf Grund statistisch belegter Erfahrungen wahrscheinlich spielen wird. Er kann aber nicht alle Zufälligkeiten voraussehen, denen ein biologisches Objekt wegen seiner modifizierbaren Natur unterworfen sein wird.

Wir haben es bewußt vermieden, das Urteil der Pflanzgutwertbestimmung Prognose zu nennen. Der Ausdruck Diagnose wäre besser. Er würde kein zukünftiges Ereignis voraussagen wollen, sondern nur aussagen, daß ein Zustand erkannt ist; und dieses ist es, was wir mit der Messung der Redoxpotentiale der Gewebebreie erkennen: ein Zustand des Materials, der unter den Umständen der Herkunftsfrage verursacht und mit dem Wechsel von gesund zu

krank in einer bestimmten Richtung verändert wird. Die drei Zahlen der Gruppen „gesund“, „kritisch“ und „krank“ sind in ihrer Gegenüberstellung ein Symbol des Zustandes der Herkunft, das aus gemessenen Größen gewonnen wird. Daß dieser mit dem Symbol beschriebene Zustand eine strenge Beziehung zum effektiven Pflanzgutwert hat, dürfte mit dem statistischen Material der vorliegenden Abhandlung nachgewiesen sein.

Wir haben vorläufig keine einwandfreien Anhaltspunkte für die Ursachenverknüpfung dieses Zustandes bzw. dieser Zustandsänderung und der Krankheitsursachen. Wir wissen also nicht, ob die Zustandsänderung eine physiologische Folge gesundheitswidriger Umstände der Herkunfts-lage ist, die den Organismus erkranken lassen oder zur Empfängnis eines Krankheitserregers disponieren, oder ob sie die Folge der Auswirkung eines Krankheitserregers ist.

## I. Zusammenfassung der Ergebnisse.

(I. bis IV. Mitteilung.)

1. In der Gewebebreiaufschlammung einer Kartoffelknolle, die sich vor dem Zerreiben in der Winterruhe befand, nimmt eine indifferente Metallelektrode ein konstantes Potential an, das die Eigen-schaften des Gleichgewichtspotentiales reversibler Systeme hat. Der anaerobe Zustand der Breiaufschlammung, der für die Messung erforderlich ist, braucht nicht technisch-methodisch hergerichtet zu werden. Er wird innerhalb gewisser Grenzen vom Gewebebrei selbsttätig besser erzeugt, als man ihn technisch herstellen könnte.

Das Melaninsystem wurde als natürlicher Schutz des anaeroben Zustandes erkannt. Die Oxydationskraft des Sauerstoffes wird auf dem Wege über die Oxydase, über reversible Oxydationsprodukte (Prämelanine), schließlich in einem unlöslichen Produkt (Melanin) festgelegt. Wenn diese kinetische Redoxkette funktioniert, dann ist der für die Messung eines Redoxpotentiales erforderliche anaerobe Zustand gegeben.

2. Gewebebreie verschiedener Knollen können verschiedene konstante Potentialwerte bewirken. Diese Unterschiede sind nicht auf Aciditätsunterschiede zurückzuführen, sondern können nur als Folge ungleicher Redoxverhältnisse erklärt werden.
3. Die Gewebebreiaufschlammungen abbaukranker Kartoffelknollen geben negativere Potentialwerte als die Gewebebreie gesunder Knollen. Diese Feststellung ist statistisch gesichert.
4. Die Variationsareale der Redoxpotentiale von Gewebebreiaufschlammungen gesunder und kranker Knollen einer Sorte überschneiden sich in einem Bereich der Redoxskala, der für die be-

treffende Kartoffelsorte typisch ist. Die Beziehung zwischen den Potentialwerten des Überschneidungsbereiches und dem Gesundheitszustand der betreffenden Knollen ist unsicher. Es sind deshalb für jede Sorte drei Potentialbereiche zu unterscheiden: 1. die Zone der gesunden Knollen, 2. die kritische Zone und 3. die Zone der kranken Knollen.

5. Die Grenzen der „kritischen Zone“ und der mittlere Potentialwert derselben sind sortencharakteristische Kennziffern, die der Berechnung des Pflanzgutwertes einer Herkunft als Vergleichsbasis zugrunde gelegt werden. Die Vergleichsbasis ist aber nur für die Zeit der absoluten Winterruhe der Knollen gültig.

In der Übergangszeit von der Ernte zur Winterruhe steigt die Anzahl meßbarer Knollen. Es setzt dann die Zeit der Winterruhe ein, in welcher fast alle Knollen einer Herkunft meßbar sind, d. h. Halbelemente mit konstanten Potentialwerten ergeben. In dieser Zeit ist die Vergleichsbasis vorhanden. Mit dem Übergang von der Winterruhe zum Beginn der Vegetation steigt die Zahl der Knollen, von denen keine meßbaren Halbelemente herzustellen sind. Gleichzeitig fällt der Durchschnitt der Potentialwerte einer Herkunft in der Richtung negativerer Potentiale.

6. Der Unterschied zwischen gesunden und abbaukranken Herkünften einer Sorte äußert sich in der Lage der Variationsareale der Redoxpotentiale. Die Werte der kranken Herkunft liegen in einem negativeren Bereich der Redoxskala als diejenigen der gesunden.
7. Der Pflanzgutwert einer Herkunft läßt sich in drei Zahlen ausdrücken, welche aussagen, wie viel Prozentanteile der Redoxpotentiale von Knollengewebekreisen der betreffenden Herkunft sich in der Zone der gesunden Knollen, in der kritischen Zone und in der Zone der kranken Knollen anhäufen.
8. Für den statistischen Nachweis der Beziehung zwischen dem potentiometrisch ermittelten Pflanzgutwert und dem Befund im Feldbestand wurde der Anteil der „kritischen Zone“ in die beiden anderen Zonen anteilmäßig verteilt. Der Vergleich ergab einen Durchschnitt von 36,93 % „krank“ in der Pflanzgutwertbestimmung, einen Durchschnitt von 34,90 % „krank“ im Feldbestand und einen Korrelationskoeffizienten  $r = +0,901$ . Dieses Ergebnis ist fehlerkritisch gesichert.

### K. Schriftenverzeichnis.

1. Ehrke, G. Untersuchungen über die Eisenfleckigkeit der Kartoffel. Biochemische Zeitschrift, **278**, 1935. 195—225.
2. Hey, A. Die Diagnose des Abbaugrades von Kartoffelknollen durch elektrometrische Messung. Zur Biologie der Kartoffel. XIV. Mitteilung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, 20. Bd., 1932. 79—90.
3. Merkenschlager, F. Zur Biologie der Kartoffel. I. bis XVI. Mitteilung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, 17.—20. Bd. 1929—1932.
4. Wartenberg, H. Die Platin-Gold-Differenz bei der Potentialbildung indifferenter Elektroden im Gewebebrei der Kartoffelknolle. Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik, **24**. 1935. 711—724.
5. Wartenberg, H. und Hey, A. Das Redoxpotential des Gewebebreies der Kartoffelknolle. Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. III. Mitteilung. Planta, Archiv für wissenschaftliche Botanik, **25**, 1936. 258—281.
6. Wartenberg, H., Hey, A. und Tahsin, A. Untersuchungen über die Azidität des Gewebebreies der Kartoffelknolle. Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. II. Mitteilung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, **21**, 1935. 499—516.
7. Wartenberg, H., Hey, A. und Urhan, O. Die elektrometrische Pflanzgutwertbestimmung der Kartoffelknolle. I. Mitteilung. Arbeiten aus der Biologischen Reichsanstalt, **21**, 1935. 331—362.
8. Ziegler, O., Beiträge zum Abbauproblem der Kartoffel. Heft 13 der Sammlung „Naturwissenschaft und Landwirtschaft“. München-Freising 1927.



# Untersuchungen über die Virulenz von *Ophiobolus graminis* Sacc.

Von

Dr. B. Bußmann.

Mit 5 Textabbildungen.

Inhalt: 1. Vorbemerkungen. — 2. Die Isolierung der Herkünfte. — 3. Kulturelle Unterschiede der isolierten Herkünfte. — 4. Die Virulenzprüfungen selbst: a) Die Technik der Versuchsdurchführung; b) Der Nachweis der Rassen; c) Die Virulenz von Myzel- und Sporenisolationen; d) Die Erhaltung der Virulenz in der künstlichen Kultur; e) Der Einfluß des Lichtes auf die Erhaltung der Virulenz; f) Infektionsversuch mit infizierten Stoppeln ohne und mit Perithezien. — 5. Zusammenfassung.

## 1. Vorbemerkungen.

Untersuchungen über die Rassenbildung parasitischer Pilze können nicht nur für die Züchtung resisternter Sorten eine Bedeutung haben, sondern sind auch für die Erforschung einer Krankheit überhaupt in manchen Fällen unumgänglich notwendig. Die von uns über die Schwarzeinigkeit des Getreides durchgeführten Versuche ließen schon bald den Verdacht auftreten, daß auch bei *Ophiobolus graminis* Rassen mit verschiedener Virulenz beständen. Diese Frage wurde daraufhin eingehender Prüfung unterzogen. Denn das Arbeiten mit nicht virulenten Herkünften kann zu keinem befriedigenden Ergebnis führen, Schlußfolgerungen aus solchen Versuchen können zu völlig falschen Ansichten verleiten. Das gilt insbesondere für die Prüfung von Sorten auf Anfälligkeit bzw. Widerstandsfähigkeit gegenüber *Ophiobolus graminis*, denn Unterschiede, die sich bei der Infektion mit einem schwach virulenten Pilz ergeben, könnten sich bei Anwendung eines hochvirulenten Stammes so weit verschieben, daß sie praktisch mehr oder weniger bedeutungslos sind. Überhaupt ist es für die Klärung praktischer Fragen unerlässlich, daß man die Untersuchungen mit einer Herkunft anstellt, deren Virulenzgrad praktischen Verhältnissen entspricht.

Ferner ist zu beachten, daß Ergebnisse von verschiedenen Versuchen über eine und dieselbe Frage nur dann miteinander in Einklang stehen können, wenn mit Pilzen von gleichem Virulenzgrad gearbeitet worden ist. Mit dieser Forderung erhebt sich dann weiter die Frage, ob der

Parasit in künstlicher Kultur oder unter irgendwelchen sonstigen Umständen seine Virulenz verliert. Durch die Beantwortung dieser Frage würde zugleich ein Beitrag zur Klärung der Bekämpfungsmöglichkeiten der Krankheit geliefert.

Beobachtungen über verschiedene Virulenzgrade bei *Ophiobolus graminis* sind schon von verschiedenen Autoren gemacht worden, u. a. von Russel (1931)<sup>1)</sup> und Moritz (1932)<sup>2)</sup>. In einer neueren Arbeit hat Padwick (1936)<sup>3)</sup> 14 Herkünfte von *Ophiobolus graminis* geprüft und dabei beachtenswerte Unterschiede im Wachstum, in der Fähigkeit, Austrocknung zu überstehen, und in der Aggressivität festgestellt.

Es kam uns bei unseren Untersuchungen zunächst darauf an, gleichfalls das Bestehen von Rassen bei *Ophiobolus graminis* nachzuweisen; ferner sollten durch Prüfung vieler Herkünfte die Untersuchungen über die Virulenz auf möglichst breiter Basis durchgeführt und alle vorkommenden Virulenzgrade erfaßt werden, um so einen Maßstab für die Beurteilung der Virulenz anderer Herkünfte an der Hand zu haben. So könnte es sich z. B. empfehlen, vor der Anlage von Feldversuchen oder anderen Versuchen über die Schwarzbeinigkeit mit einer unbekannten Herkunft sich davon zu überzeugen, ob der betreffende Pilz einen solchen Virulenzgrad aufweist, daß eine Verallgemeinerung des Versuchsergebnisses oder ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Forscher zulässig ist.

Im Anschluß an die Feststellung der Rassen wurden dann noch Untersuchungen durchgeführt über die Entstehung und die Veränderlichkeit des Virulenzgrades.

## 2. Die Isolierung der Herkünfte.

Die für die Virulenzprüfungen verwandten Herkünfte wurden von krankem, aus verschiedenen Gegenden Deutschlands eingesandtem Pflanzenmaterial gewonnen. Die Gewinnung einer Reinkultur bereitet manchmal einige Schwierigkeiten. Am leichtesten und sichersten gelingt es durch Auslegen von jungen, noch geschlossenen Perithezien auf Biomalzagär. Die Perithezien werden etwa fünf bis zehn Sekunden in Sublimat (1:1000) sterilisiert, in steriles Wasser abgewaschen und dann auf den Nährboden übertragen. Ein Zerdrücken der Perithezien ist meistens nicht notwendig. Oft treten Verunreinigungen durch Bakterien ein. Diese beeinträchtigen jedoch die Isolierung des Pilzes in der Regel nicht, da sie sich meistens auf die Impfstelle beschränken, der Pilz aber nach einiger Zeit unter die

<sup>1)</sup> Russel, R. C. 1931. Study of take-all (*Ophiobolus graminis*) of wheat. Report of the Dominion Botanist for the year 1930 (Dom. of Canada) p. 78.

<sup>2)</sup> Moritz, O. 1932. Weitere Studien über die *Ophiobolose* des Weizens. Arb. a. d. B. R. A. für Land- und Forstwirtschaft, **20**, 27.

<sup>3)</sup> Padwick, G. W. 1936. Biologic strains of *Ophiobolus graminis* Sacc. The Annals of appl. Biol., **23**, 45.

Bakterienkolonie hinwegwächst und außerhalb derselben dann leicht abgeimpft werden kann.

Hat man keine geeigneten Perithezien zur Verfügung, so muß man die Isolierung aus der geschwärzten Halmbasis vornehmen, und zwar wird man in erster Linie solche Halmstücke nehmen, die sehr stark von *Ophiobolus graminis* befallen sind. Beim Auslegen auch von sterilisierten Halmteilen treten nämlich leicht Verunreinigungen durch fremde, im Halm sich befindende Pilze (meist Fusarien) ein, die meistens schneller herauswachsen als *Ophiobolus graminis* und diesen so unterdrücken oder ihn überwuchern. Deshalb ist die Isolierung aus äußerlich sterilisierten Perithezien, falls diese noch vollkommen geschlossen sind und sich die Sporen in dem für die Keimung erforderlichen Zustand<sup>1)</sup> befinden, immer sicherer und leichter.

Man verwendet für die Isolation von *Ophiobolus graminis* — sei es aus Perithezien oder aus dem Halm — am zweckmäßigsten den klaren, durchsichtigen Biomalzagar (2% Agar-Agar, 1% Biomalz), weil man auf diesem bereits die ersten schwachen Hyphenbündel schon mit dem bloßen Auge wahrnehmen und so den Pilz schnell abimpfen kann, bevor Verunreinigungen durch fremde Pilze die Gewinnung einer Reinkultur unmöglich machen. Nach einiger Erfahrung kann man den Pilz bereits im ersten Stadium des Anwachsens in den meisten Fällen einwandfrei erkennen. Insbesondere ist zu beachten, daß *Ophiobolus graminis* langsamer wächst als die meisten anderen Pilze, die vielfach aus ausgelegten Halmstücken mit herauswachsen, und man deshalb in den meisten Fällen schon an der Schnelligkeit des Wachstums sehr bald feststellen kann, ob man es mit *Ophiobolus graminis* zu tun hat oder nicht. Ferner bildet *Ophiobolus graminis* fast nie einen geschlossenen Myzelkreis um das Isolationsstück herum, sondern wächst meistens mit weit ausreichenden, geschlängelten, einzeln liegenden Hyphenbündeln an, die sich dann später erst zu einer geschlossenen Myzeldecke verdichten. Überhaupt wird man ihn an dem strähnigen Wachstum auch in einem späteren Stadium, in dem er dann noch in der Regel eine charakteristische Färbung annimmt, in den meisten Fällen erkennen können.

### 3. Kulturelle Unterschiede der isolierten Herkünfte.

Viele der in Reinkultur gewonnenen Herkünfte zeigten schon in der künstlichen Kultur ganz erhebliche Unterschiede. In der Regel färbt sich das Myzel von *Ophiobolus graminis* dunkel; bei einigen Herkünften jedoch, so bei Nr. 16, 22 und 33, blieb das Substratmyzel vollständig farblos, während Luftmyzel, das sich sonst fast immer einstellt, überhaupt nicht vorhanden war. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich,

<sup>1)</sup> Vgl. Bußmann, B. Beiträge zur Kenntnis der Fußkrankheiten des Getreides unter besonderer Berücksichtigung der durch *Ophiobolus graminis* Sacc. verursachten Schwarzbeinigkeit des Weizens. Dissert. Bonn-Poppelsdorf 1933.

daß das dunkle Myzel voll mit Fettropfen angefüllt war, [das farblose Myzel dagegen nur ganz wenige Fettropfen enthielt. Das farblose Substratmyzel war außerdem niemals strähnig. Auch unter den mit dunklem Myzel wachsenden Herkünften waren noch deutliche Unterschiede vorhanden. Einige Herkünfte bildeten ein dichtes, flockiges, schwarzes Luftmyzel, andere ein mehr lockeres oder spärliches, weißes bis graues Luftmyzel. Bei der Herkunft Nr. 84 war das Luftmyzel in kleinen, weiß-grauen Flöckchen über die ganze Agarfläche verteilt.



Abb. 1.

Perithezien von *Ophiobolus graminis* Stamm 91 auf Hafermehlagar; zehn Tage nach der Beimpfung.

bodens zu erzwingen, ein vollständig negatives Ergebnis.

Die Neigung zur Perithezienbildung in der künstlichen Kultur läßt meistens nach einiger Zeit (etwa nach  $\frac{1}{2}$ , bis 1 Jahr) merklich nach, bis schließlich überhaupt keine Perithezien mehr gebildet werden. Einige Herkünfte lieferten schon nach 1 bis 2 Monaten seit der Inkulturnahme keine Perithezien mehr. Die meisten Herkünfte fruktifizierten auf Agarnährböden überhaupt nicht, viele von diesen jedoch wohl auf Strohkulturen, besonders dann, wenn man diese einige Monate alt werden ließ. Die Fähigkeit der Perithezienbildung in der künstlichen Kultur muß als eine Rassen-eigentümlichkeit angesehen werden.

Auch in der Perithezienbildung waren bemerkenswerte Unterschiede zwischen den Herkünften vorhanden. Besonders reichlich fruktifizierten anfangs die Herkünfte Nr. 91 und 21. Die Perithezien werden vorzugsweise am Rande der Agarschicht sowie — besonders bei Verwendung von Hafermehlagar — am Reagenzglas gebildet. Abbildung 1 zeigt eine Kultur von Stamm 91 auf Hafermehlagar mit zahlreichen Perithezien an der Glaswand. Man könnte vermuten, daß die Induktion der Perithezienbildung am Rande der Agarschicht und am Reagenzglas selbst mit der schnellen Austrocknung der an diesen Stellen sehr dünnen Agarschicht zusammenhängt. Auch auf Plattenkulturen beobachteten wir meistens erst Perithezienbildung, wenn der Agar schon weitgehend ausgetrocknet war. Daß jedoch die Austrocknung mindestens nicht als ausschlaggebender Faktor für die Perithezienbildung anzusehen ist, zeigte die Herkunft Nummer 21, bei der zuweilen die ganze Agarschicht bereits kurze Zeit nach der Beimpfung mit Perithezien bedeckt war. So lieferten denn auch Versuche, bei anderen, nicht fruktifizierenden Herkünften die Perithezienbildung durch Austrocknung des Nähr-

Auffallend war die starke Neigung einiger Herkünfte zur Sporidienbildung. Wie Verfasser (a. a. O.) gezeigt hat, werden die Sporidien häufig an älteren, langsam keimenden Sporen gebildet. Bei den Herkünften 23, 39 und V fand man sie jedoch auch bei jüngeren Sporen; diese zeigten aber nur eine geringe Keimenergie, mit der offenbar die Stärke der Sporidienbildung in Zusammenhang steht. Bei der Herkunft 39 war die Sporidienbildung sogar so stark, daß das Wasser unter dem Deckglas schon bei makroskopischer Betrachtung getrübt erschien. Hier war denn auch die Keimung der Sporen fast ganz unterblieben; nach mehreren Tagen fand man nur vereinzelt Sporen, die einen kurzen, dicken Keimschlauch gebildet hatten.

Die Sporidienbildung geht vielfach so weit, daß der Fettinhalt der Sporen dafür vollständig aufgebraucht wird. Die Sporidien entstehen nur an Sporen, in denen das Fett in feiner Verteilung vorhanden ist; bei Sporen mit wenigen großen Fetttropfen tritt weder Keimung, wie Verfasser (a. a. O.) schon früher gezeigt hat, noch Sporidienbildung ein. Welche Bedeutung die Sporidienbildung hat, konnte nicht geklärt werden. Ein von uns mit Sporidien an Sommerweizen durchgeföhrter Infektionsversuch in Vegetationsgefäßern ergab keinen Befall.

#### 4. Die Virulenzprüfungen.

##### a) Die Technik der Versuchsdurchführung.

Die Virulenzprüfungen werden am zweckmäßigsten während der kalten Jahreszeit bei Temperaturen von etwa 10—18° C durchgeführt. Bei Einhaltung dieser Temperaturspanne kommen nämlich Unterschiede in der Schädigung der Pflanzen besser und mit größerer Sicherheit zum Vorschein. Wählt man höhere Temperaturen, so entwickeln sich die Pflanzen so schnell, daß bei weniger virulenten Herkünften überhaupt keine Beeinträchtigung des Wachstums zustande kommt und so die schwach virulenten Herkünfte von den nicht virulenten nicht unterschieden werden können.

Ferner ist es für die Erfassung geringer Unterschiede im Virulenzgrad notwendig, daß sämtliche Töpfe eines Versuches unter vollkommen gleichen Bedingungen stehen. Ob diese Forderung erfüllt ist, das ersieht man am ehesten daraus, ob die Wiederholungen in den einzelnen Reihen unter sich gut übereinstimmen. Das war bei der von uns gewählten Versuchsanstellung immer überraschend gut der Fall. Vielfach war bei den drei Wiederholungen einer Reihe absolut kein Unterschied im Stand der Pflanzen festzustellen, fast immer aber war er so gering, daß er kaum auffiel. Bei der Versuchsmethodik, die diesen Anforderungen entspricht, kommt es besonders darauf an, die Töpfe gleichmäßig zu infizieren und außerdem gleichmäßig feucht zu halten.

Das Infektionsmaterial wurde in der Weise gewonnen, daß gehäckseltes Weizenstroh in Erlenmeyerkolben angefeuchtet und nach Sterilisation im Autoklaven mit den Herkünften beimpft wurde. Um ein gleichmäßiges und sicheres Anwachsen der Pilze zu erreichen, wurden auf das Stroh einige gequollene Weizenkörner gegeben. Das Weizenstroh selbst wurde so weit zerkleinert, daß ein gleichmäßiges Vermischen mit der Erde später bei der Ausführung der Infektion möglich war. Am zweckmäßigsten ist eine Länge von ungefähr 1 bis 2 cm.

Nach drei bis vier Wochen waren die Kolben vom Pilz durchwachsen. Darauf wurde sogleich die Infektion vorgenommen. Als Boden diente ein steriler Quarzsand, dem zur Erhöhung der wasserfassenden Kraft 6% Torf beigemengt wurde. Als Vegetationsgefäße kamen Blumentöpfen mit zirka 1,5 Liter Inhalt zur Verwendung. Um eine gleichmäßige Versorgung der Pflanzen mit Nährstoffen in allen Töpfen sicherzustellen, wurde die Nährlösung nicht in jeden einzelnen Topf gegossen, sondern vorher mit der gesamten für den Versuch benötigten und genau abgemessenen Menge Sandtorf gründlich vermischt, und zwar in der Menge, wie sie am Institut bei Vegetationsversuchen mit Getreide üblich ist. Mit der für drei Töpfen benötigten Menge des so hergerichteten Sandtorgemisches wurden die Strohkulturen einer jeden Herkunft — zwei Erlenmeyerkolben von je 300 ccm und ein Erlenmeyerkolben von 250 ccm Inhalt — gründlich vermengt und das ganze Gemisch dann gleichmäßig auf drei Blumentöpfe verteilt.

Zwecks gleicher Versorgung mit Wasser wurden die Töpfe in Zinkbleche gestellt, in die das Wasser hineingegossen wurde; auf diese Art und Weise ist am sichersten eine ständig gleichmäßige Durchfeuchtung des Bodens in sämtlichen Töpfen gewährleistet; das ist nicht nur für das Wachstum der Pflanzen, sondern auch für die Entwicklung des Pilzes von großer Bedeutung. Um eine Anpassung des Pilzes an die veränderten Umweltverhältnisse zu ermöglichen, wurden die Töpfe erst 14 Tage nach der Infektion besät.

### b) Der Nachweis der Rassen.

Zur Prüfung gelangten erstmalig im Winter 1931/1932 folgende Herkünfte:

Bezeichnung	Isoliert aus	Herkunft
K	Halm	Köln
V	"	Versuchsfeld Bonn
B	"	Buir, Bezirk Köln
E	"	Nicht bekannt (1930 von eingesandtem Material isoliert)
16	Perith.	Eschen, Kreis Altena in Westfalen
21	"	Bischheim bei Kamenz (Sachsen)
91	"	Kastenseeon bei Glonn (Oberbayern)
7	"	Roßbach, Provinz Starkenburg (Hessen)

Bezeichnung	Isoliert aus	Herkunft
49	Perith.	Rosenheim (Oberbayern)
99	"	Münsterberg (Ostpreußen)
24	"	Schönfeld (Oberfranken)
65	"	Deisenheim bei Ueberlingen (Baden)
F	"	Frechen bei Köln
22	"	Rohrbach (Oberbayern)
57	"	Schloßvippach, Kreis Weimar (Thüringen)
33	"	Neuschwetzingen, Bezirk Schwaben

Außerdem erhielten wir aus Kiel durch die Güte von Herrn Ober-Regierungsrat Professor Dr. Blunck die Herkünfte O<sub>4</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>, A<sub>3</sub> und A<sub>5</sub>, wofür auch an dieser Stelle unser besonderer Dank ausgesprochen sei.

Der Versuch wurde angesetzt am 11. Februar 1932. Am 27. Februar wurden die Töpfe mit dem S.-Weizen „Heines Kolben“ besät. Der Auflauf erfolgte am 6. und 7. März; kurze Zeit darauf wurden die Pflanzen in jedem Topf auf zehn verzogen. Nach vier Wochen waren bereits ganz beträchtliche Unterschiede festzustellen. Die Wiederholungen innerhalb einer jeden Reihe stimmten dabei sehr gut miteinander überein. Die in den Abbildungen 2 bis 5 wiedergegebenen Aufnahmen wurden am 6. April gemacht. Am 10. Juni wurde der Versuch abgebrochen. Als am wenigsten virulent hatten sich die Herkünfte A<sub>3</sub>, O<sub>7</sub>, E und K erwiesen; sie stimmten fast mit der Kontrolle (C) überein. Den stärksten Virulenzgrad zeigte die Herkunft Nr. 16 und demnächst Nr. 91. Zwischen diesen Extremen waren alle Übergänge vorhanden, wie auch aus den Abbildungen hervorgeht. Nach verhältnismäßig kurzer Zeit konnten an allen Pflanzen, bei denen Befall der Halmbasis vorlag (was natürlich in erster Linie bei den stark geschädigten Pflanzen zu beobachten war), Perithezien des Pilzes festgestellt werden. Die Unterschiede, die in der künstlichen Kultur in der Neigung zur Perithezienbildung auftraten, waren hier jedoch nicht mehr zu beobachten.

### c) Die Virulenz von Myzel- und Sporenisolationen.

Bei dem beschriebenen Infektionsversuch war die Tatsache auffallend, daß bei den von uns isolierten Herkünften die vier, die durch Auslegen von befallenen Halmen, also aus Myzel gewonnen worden waren, eine geringere Virulenz zeigten als die übrigen, aus Sporen gezogenen Stämme. Diese Beobachtung legte die Vermutung nahe, daß vielleicht der Fruktifikation eine Bedeutung in der Erhaltung oder in der Veränderung der Virulenz des Parasiten zukommen könnte. Dasselbe glaubten auch Mc Kinney und Davis<sup>1)</sup> annehmen zu müssen. Die Virulenz des „Oregon“-Stammes, den sie für ihre Infektionsversuche verwandten, schien

<sup>1)</sup> Journ. of Agric. Res. 1925. 31. p. 828.

Herkünfte von *Ophiobolus graminis* Sacc.

Abb. 2.



Abb. 3.



Abb. 4.



Abb. 5.

mit der Zeit nachzulassen. Sie ersetzten ihn deshalb durch den Stamm „New-York“, der seine ursprüngliche Virulenz behalten hatte. Die Verfasser erklären diese Tatsache damit, daß der Stamm „New-York“ öfter Perithezien gebildet und so eine Vermehrung mittels Sporen ermöglicht hätte, während der „Oregon“-Stamm niemals fruktifizierte und deshalb immer rein vegetativ weitergezogen werden mußte. Diese Frage hat außer dem theoretischen Interesse nicht nur für die Durchführung von Vegetationsversuchen, sondern auch für die Erforschung von Bekämpfungsmöglichkeiten der Schwarzbeinigkeit eine große Bedeutung. Besteht die von Mc Kinney und Davis geäußerte Ansicht zu Recht, so würde man nämlich durch Vernichtung der die Perithezien beherbergenden Stoppeln von befallenem Getreide wenigstens mit der Zeit eine Ausrottung der Krankheit erreichen können. Zur Klärung dieser Frage wurde ein entsprechender Versuch durchgeführt.

Zunächst wurden die Herkünfte 21, 91, 16 und 0, von den befallenen Pflanzen des oben beschriebenen Herkunftsversuches von neuem isoliert, und zwar sowohl aus dem Halm als auch aus Perithezien. Bei Abbruch des ersten Herkunftsversuches am 10. Juni wurden dann die Stoppeln aus den Töpfen herausgerissen, so daß also die Perithezien mit entfernt wurden, und darauf wieder der S.-Weizen „Heines Kolben“ in die verseuchten Töpfe ausgesät. Von den befallenen Pflanzen wurden noch einmal die Herkünfte 16 und 21 zugleich aus dem Halm und aus Perithezien isoliert. Außerdem wurden im Herbst 1932 von eingesandten und selbstgesammelten kranken Pflanzen sieben Herkünfte als Myzel- und als Sporenisolationen gewonnen. Die so erhaltenen 26 Reinkulturen wurden im Winter 1932/33 vergleichend auf ihre Virulenz geprüft. Die Ergebnisse dieser Virulenzprüfungen lieferten jedoch keinerlei Handhabe, um der Fruktifikation eine Rolle in der Virulenz des Pilzes zuzuschreiben. Nur in zwei Fällen war die Isolation aus Perithezien virulenter als die aus Myzel; dagegen war fünfmal die Schädigung durch die Myzelisolation größer als durch die entsprechende Sporenisolation; sechsmal hielt sich die Virulenz der Spore- und Myzelisolation die Waage. Von einem allgemeinen Vorrang der Isolationen aus Sporen gegenüber denen aus Myzel hinsichtlich der Virulenz konnte demnach nicht die Rede sein, obwohl manche Myzelisolationen doch eine ziemlich lange ununterbrochen saprophytische Lebensweise durchgemacht hatten.

#### d) Die Erhaltung der Virulenz in der künstlichen Kultur.

Um der Frage weiter nachzugehen, ob *Ophiobolus graminis* bei dauernder Haltung in der künstlichen Reinkultur allmählich seine Virulenz verliert, wurden im Winter 1932/33 die stark virulenten Herkünfte 21, 16 und 91 wiederum auf ihre Virulenz geprüft. Diese Stämme waren im Herbst 1931 isoliert worden und wurden seitdem alle vier Wochen auf

Hafermehl- und Biomalzagar abwechselnd weitergeimpft, und zwar immer rein vegetativ. Bei dem durchgeföhrten Versuch zur Prüfung auf Erhaltung der Virulenz war jedoch bei keiner der drei Herkünfte eine Veränderung derselben durch die künstliche Kultur festzustellen. Sie zeigten noch dieselbe Aggressivität wie bei der ersten Prüfung im Winter 1931/32, so daß auch die geringen Unterschiede, die diese Rassen unter sich gezeigt hatten, noch ebenso deutlich zum Vorschein kamen.

#### e) Der Einfluß des Lichtes auf die Erhaltung der Virulenz.

Mit den folgenden Versuchen sollte die Frage geklärt werden, ob die Belichtung von Einfluß auf die Erhaltung der Virulenz von *Ophiobolus graminis* ist. Zu diesem Zweck wurden Agarkulturen vom Stamm 91 am 4. Mai 1932 ins Dunkle gebracht und ebenso wie die im Hellen aufbewahrten Kulturen alle vier Wochen abwechselnd auf Hafermehl- und Biomalzagar weitergeimpft. Im Dunkeln wurden keine Perithezien gebildet. Diese Tatsache ist auch schon von Davis<sup>1)</sup> festgestellt worden. Im Frühjahr 1933 erfolgte die Virulenzprüfung auf folgende Weise. Mit den verdunkelten Kulturen wurden sechs Kolben mit Stroh beimpft, von denen drei wiederum im Dunkeln gehalten wurden, drei dagegen im Hellen. In genau derselben Weise wurde mit den im Hellen aufbewahrten Pilzkulturen verfahren und das Infektionsmaterial zum Teil im Dunkeln, zum Teil im Hellen aufbewahrt. Als die Strohkulturen durchgewachsen waren, wurde der Infektionsversuch am 21. Februar 1933 in der üblichen Weise angesetzt. Die Aussaat des Sommer-Weizens „Heines Kolben“ erfolgte am 7. März, der Auflauf am 15. März. Am 3. Mai 1933 war über den Stand der Pflanzen folgendes festzustellen: Eindeutige Unterschiede sind zwischen den mit verdunkelten Kulturen und den mit nicht verdunkelten Kulturen beimpften Reihen nicht wahrzunehmen; alle infizierten Reihen zeigen starke Schädigung. Was aus dem Versuch hervorgeht, ist die Tatsache, daß *Ophiobolus graminis* bei Wachstum im Dunkeln innerhalb des oben angegebenen Zeitraumes seine Virulenz nicht verloren, und daß von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet eine Vernichtung der Stoppeln von befallenem Getreide keine Vorteile hinsichtlich der Bekämpfung der Krankheit bietet.

#### f) Infektionsversuch mit infizierten Stoppeln ohne und mit Perithezien.

Schließlich wurde noch ein Infektionsversuch mit Stoppeln von befallenem Weizen in der Weise durchgeführt, daß eine Reihe ohne Perithezien, eine andere Reihe mit Perithezien beimpft wurde. Dieser Versuch wurde nicht wie die anderen Virulenzprüfungen in Blumentöpfen ange stellt, sondern in großen Vegetationsgefäßen von 8 Litern Inhalt. Als Versuchspflanze diente der Winter-Weizen „Criewener 104“. Die Töpfe

<sup>1)</sup> Journ. of Agric. Res. 1925. 31. p. 813.

wurden mit verseuchtem Versuchsfeldboden gefüllt, der von Stellen des Feldes entnommen war, an denen schwarzbeinige Pflanzen gestanden hatten. In jedes Vegetationsgefäß kamen etwa 30 bis 40 Stoppeln. Die Aussaat erfolgte am 21. Oktober 1932. Während der Entwicklung war kein Unterschied im Stand der Pflanzen zwischen den beiden Reihen festzustellen. Bei Abbruch des Versuches zur Zeit der Reife waren die Wurzeln überall gleich stark befallen und vermorscht. Auch im Tausendkorngewicht waren keine Unterschiede zugunsten der ohne Perithezien beimpften Reihe vorhanden.

Nach den dargelegten Versuchen bietet die Vernichtung der von *Ophiobolus graminis* befallenen Stoppeln in der Absicht, eine Verminderung der Virulenz des Pilzes zu erzielen, kaum Aussicht auf Erfolg. Es bliebe höchstens noch zu untersuchen, ob die Anwendung längerer Zeiträume in der Unterbrechung der Fruktifikation und im Lichtentzug andere Ergebnisse liefern würde.

### 5. Zusammenfassung.

1. Unter Anwendung einer besonderen Infektionsmethodik, die eingehend beschrieben wird, wurden mehrere Herkünfte von *Ophiobolus graminis* Sacc. auf ihre Virulenz geprüft und dabei ganz extreme Unterschiede im Virulenzgrad mit allen Übergängen festgestellt.
2. Isolationen aus Sporen zeigen nicht allgemein eine größere Virulenz als die aus Myzel.
3. In der künstlichen Kultur und bei rein vegetativer Vermehrung zeigten drei Herkünfte von *Ophiobolus graminis* nach einem Jahre noch nicht die geringste Verminderung der Virulenz.
4. Durch Wachstum im Dunkeln bis zu einem Jahre wurde die Virulenz von *Ophiobolus graminis* nicht herabgesetzt.
5. Ein Infektionsversuch mit befallenen Stoppeln zeigte bei Belassung der Perithezien an diesen keinen stärkeren Befall, als wenn die Perithezien entfernt wurden.

---

Vorstehende Arbeit wurde in den Jahren 1931/33 am Institut für Pflanzenkrankheiten in Bonn mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, der auch an dieser Stelle bestens gedankt sei, durchgeführt.

Ebenso danke ich Herrn Professor Schaffnit für hilfreiche Förderung und Unterstützung.



# Ueber die Kropfkrankheit an Eiche, Kiefer und Fichte.

Von

Forstreferendar Friedrich Sprengel.

Mit 53 Textabbildungen.

Inhalt: A. Die „Kropfkrankheit“ der Eiche: 1. Makroskopische Betrachtung der Einzelknolle. 2. Der Beginn der Krankheit und die Verteilung der Knollen am Stamm. 3. Die Verteilung der kranken Individuen im Bestande. 4. Das Vorkommen der Eichenkropfkrankheit. 5. Der Aufbau des gesunden Eichenholzes. 6. Das kranke Gewebe des Eichenkropfes und das benachbarte gesunde Gewebe. 7. Literaturangaben über die breiten Markstrahlen und deren Bedeutung für die Eichenkropfkrankheit. 8. Die Veränderungen in der Rinde. 9. Die bisherigen Versuche, die Entstehungsursache der Eichenkropfkrankheit zu erklären. 10. Versuche, deren Ergebnis noch abzuwarten ist. 11. Überblick über die wichtigsten Eigenarten der Eichenkropfkrankheit. — B. Die „Knollenkiefer“: 1. Das makroskopische Bild der Einzelknolle. 2. Mikroskopische Untersuchungen an den Knollen der Kiefer. 3. Die Verbreitung der Knollenkiefern im Bestand und die Verteilung der Knollen am Stamm. 4. Die bisherigen Versuche, das Problem der Knollenkiefer zu erklären. 5. Überblick über die wichtigsten Eigenarten der Knollenkiefer. — C. Die „Kropffichte“: 1. Die Gestalt der Fichtenkröpfe. 2. Die Verbreitung der Kropffichten im Bestand. — D. Schlußbetrachtung. — E. Zusammenfassung. — F. Literatur.

Am Stamm oder an den Zweigen vieler Holzarten finden sich Knollen, Auftreibungen und Beulen, die man in vielen Fällen auf irgendeine Ursache zurückführen konnte. Rein mechanische Reize, wie das Reiben eines Schutzgitters, verursachen z. B. Stammauertreibungen an Alleeulmen. Bei häufigem Entfernen von Wasserreisern entstehen dicke Wülste an Eiche und Linde. In anderen Fällen erkennt man die Anwesenheit von parasitären oder symbiotischen Organismen.

Gegenstand der vorliegenden Betrachtung sollen ähnliche Bildungen des Kambiums bei Eiche, Fichte und Kiefer sein, die unter den Bezeichnungen „Kropfkrankheit“, „Knollenkrankheit“ und anderen in der Literatur erwähnt werden. (Vergl. Abb. 2, 37, 53.) Diese Erscheinungen sind zum Teil schon wiederholt beschrieben worden, haben aber doch bisher nur wenig Bearbeitung gefunden.

Es muß gleich darauf hingewiesen werden, daß mit der Zusammensetzung von Kropfeiche, Kropffichte und Knollenkiefer nicht völlige Analogie behauptet werden soll. Es bestehen jedoch so viele gemeinsame Eigenschaften, daß eine Gegenüberstellung berechtigt erscheint.

---

Anmerkung: Erscheint zugleich als Dissertation der Forstlichen Hochschule zu Hann.-Münden.

### A. Die „Kropfkrankheit“ der Eiche.

Da bei Beschreibung der drei Erscheinungen Vergleiche und Hinweise auf die Literatur erforderlich sind und die Literatur über die Eichenkropfkrankheit am größten ist, soll mit deren Beschreibung begonnen werden. Für die Eiche hat die Bezeichnung „Kropfkrankheit“ die häufigste Anwendung gefunden, und sie soll deshalb auch hier gebraucht werden, solange eine systematische Ordnung dieser Art von Krankheiten nicht eine andere Bezeichnung verlangt.

Man versteht unter Eichenkropfkrankheit das Auftreten von Beulen bis krebsartigen Geschwüsten am Stamm und an den Zweigen. Dieselben werden aber nur in geringen Höhen des Baumes (höchstens sechs Meter) gefunden.

Liegen mehrere Krankheitsherde benachbart, so entstehen Gebilde, die den für die Einzelknolle eigenartigen Aufbau nicht gut erkennen lassen. Im Folgenden soll eine Beschreibung der Einzelknolle, wie sie sich bei möglichster Isolierung von anderen Knollen entwickelt, gegeben werden.

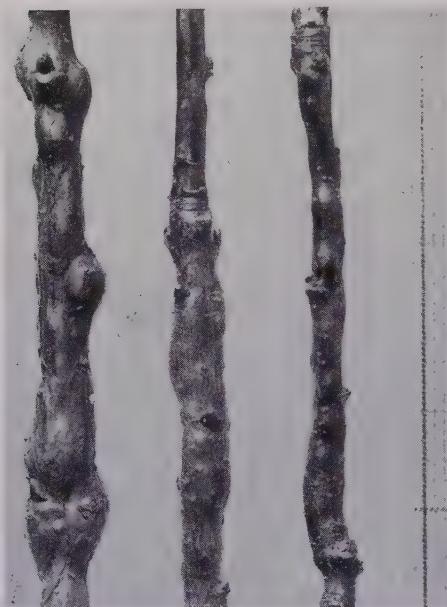


Abb. 1.

Jüngste Stadien der Eichenkropfkrankheit.  
Links an einem dreijährigen, rechts an zwei  
zweijährigen Trieben.

lich. Man sieht eine leichte Erhebung von 3 mm Länge und etwas geringerer Breite, die beim Querschneiden nichts Besonderes erkennen lässt. Diese Verdickungen finden sich einzeln oder zu mehreren dicht benachbart (Abb. 1). Das Letzte ist meist der Fall. Verletzungen des Zweiges sind nicht sichtbar.

Etwa 1 bis 2 cm dicke Zweige tragen sehr viel deutlichere und weithin erkennbare Beulen (Abb. 1 bis 3). Auf dem Querschnitt ist eine geringe Aufreibung des Holzkörpers, eine starke Verdickung der Rinde feststellbar (Abb. 29, 30). Borke fehlt. Im Holz findet sich ein brauner Fleck, der Beginn einer Verkernung. An etwa 3 cm dicken Zweigen tritt über den Knollen Borke auf. Der Querschnitt zeigt eine starke Verkernung des kranken Holzes, die es scharf vom gesunden Holz abhebt. Diese Ver-

#### 1. Makroskopische Betrachtung der Einzelknolle.

Die jüngsten Stadien der Eichenkropfkrankheit sind mit Sicherheit an den zweijährigen Trieben kennt-

kernung beginnt im ersten Jahrringe mit einer winzigen Stelle und dehnt sich seitlich stark in den späteren Jahrringen aus. Weite Poren fehlen dem Holz, und der Charakter der Ringporigkeit geht verloren (Abb. 5,



Abb. 2.

Die Eichenkropfkrankheit an Zweig- und Stammabschnitten verschiedenen Alters.

29, 30). Die für Stiel- und Traubeneiche typischen „breiten Markstrahlen“ sind im kranken Holz nicht vorhanden. Mit bloßem Auge sind die Markstrahlen sehr schwer erkennbar. Der Längsschnitt zeigt, daß der kranke Teil in der Längsrichtung des Stammes eine auffallend geringe Ausdehnung hat im Verhältnis zu der in der Querrichtung. Im Längsschnitt beginnt der kranke Holzteil an einer winzigen Stelle, und seine Höhe nimmt nur wenig zu. Bei Entfernen der Rinde tritt der Faserverlauf deutlich hervor (Abb. 13). Quer zur Stammachse angeordnet erkennt man einen bläulichgrauen Streifen, der mit dicht benachbarten Wirbeln besetzt ist. Bei Glätten der Knollenoberfläche durch Abschälen einer dünnen Holzschicht sieht man, daß die breiten Markstrahlen oben und unten an der Grenze des kranken Gewebes endigen (Abb. 13).



Abb. 3.

Rechts ein außergewöhnlich stark erkranktes Zweigstück. Links zwei Knollen mit sehr regelmäßigen Borkenwülsten.

An 3 cm dicken Zweigen finden sich zuweilen Knollen, deren Kambium zum Teil tot ist. Solche Knollen sind äußerlich manchmal völlig glatt und zeigen keinerlei Borkenbildung.

Zweige, die dicker als 3 cm sind, zeigen in der Regel Knollen, die aufgeplatzt sind und dicke gegeneinander stehende Borkenwülste tragen

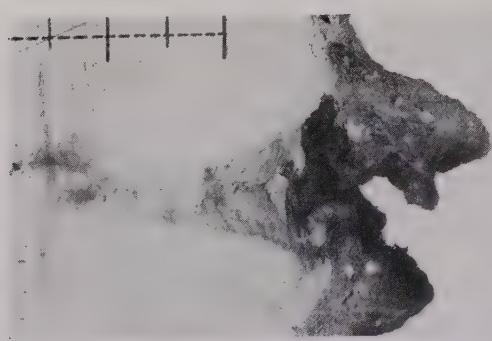


Abb. 4.  
Schnitt durch einen Eichenkropf  
in der Längsrichtung des Stammes.

(Abbildung 4). Die Borkenwülste gleichen manchmal Lippen, die quer zur Stammrichtung laufen, oder rosettenartigen Bildungen, die mehrfach mit ähnlichen von *Testudinaria Elephantipes* verglichen worden sind. Schneidet man eine solche Knolle quer, so erkennt man, daß das vom Kambium abgeschiedene, braun gefärbte Rindengewebe sehr feucht und schwammig ist. Beim Austrocknen zieht sich dieses Ge- webe stark zusammen.

Ist das Kambium der Knolle abgestorben, so ist die Folge vom Weiterwachsen des Stammes, daß der Stamm an der Kropfstelle frei liegt und von keinerlei Gewebe mehr gedeckt ist. Rings um die Lücke entsteht ein Kallus, der sich aber meist nicht schließt. Es bildet sich dann ein Einschnitt, der den Stamm genau senkrecht zur Stammachse durchquert und durch zwei gegeneinander gestellte Wülste kenntlich ist (Abb. 6). In manchen, aber offenbar seltenen Fällen gelingt es, daß die Wunde sich bald wieder schließt (Abb. 7). Sind mehrere Knollenanlagen dicht benachbart gewesen, und ist daher eine größere Fläche abgestorben, so entstehen krebsartige Gebilde (Abbildung 8), deren Überwallung aussichtslos erscheint. In manchen Fällen dringt von hier aus Fäulnis in den Stamm vor.



Abb. 5.  
Schnitt durch Eichenkropf quer zur Stammachse.

Die weiter entwickelten Stadien finden sich bei der Eiche an den dickeren Zweigen. Die Veränderungen des Holzes sind stets bis in den ersten Jahrring zu verfolgen.

## 2. Der Beginn der Krankheit und die Verteilung der Knollen am Stamm.

Eine sehr verbreitete Ansicht ist, daß alle Maserwuchsbildungen irgendwie in Zusammenhang mit Knospen stehen. Da Knospen und Blattanlagen regelmäßig am Sproß verteilt sind, müßte die Verteilung der Kröpfe am jungen Triebe ebenfalls gewisse Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen. Man wird sich aber vergeblich bemühen, in der Anordnung der Knollen an der Stammachse irgendein System zu finden. Sie sind sehr unregelmäßig weit von einander entfernt, treten zuweilen in der Nähe von Knospen bzw. von Verzweigungen auf, meist aber nicht, und sind auch nicht in Orthostichen eingerichtet.

Die Frage, wer die Krankheit erregt, ist bisher nicht zu beantworten. Es stand nicht einmal fest, ob überhaupt ein äußerer Anlaß zur Knollenbildung gegeben sein muß. Die folgende Untersuchung soll einige Anhaltspunkte aufdecken.

Für die anatomische Betrachtung wurden zwei- und dreijährige Knollen von etwa 3 mm dicken Trieben gewählt. Das ist ein Stadium, in dem man die Krankheit schon sicher ansprechen kann und in dem man Durchreißungen von Geweben noch erkennen müßte. Mechanische Störungen sind so gut wie nie zu finden. Auf dem Tangentialschnitt durch die Knollen sieht man im Inneren des Holzes einen dunklen Punkt, der bei mikroskopischer Betrachtung eine Vermehrung der radialen Reihen — wenn dieser Ausdruck aus der Anatomie der Koniferen hier verwandt werden soll — bemerkenswert (Abb. 9). Diese mikroskopische Untersuchung gibt also keinen Aufschluß, denn die Tatsache des Nichterkennens schließt die Möglichkeit eines äußeren Einflusses nicht aus.

Der Frage, ob es überhaupt Sinn hat, nach einem äußeren Anlaß zur Knollenbildung zu forschen, diene folgende Prüfung. Man beobachtet, daß die meisten Erreger von Krankheiten nicht gleichmäßig Jahr für Jahr auftreten, sondern in manchen Jahren kaum spürbaren Schaden anrichten, in anderen Kalamitäten herbeiführen. Der Maikäfer, die Nonne, auch Sturm und Schnee seien hier genannt. Während wir dort Ursache (Schädling) und Wirkung (z. B. Blattverlust) kennen, will ich aus der Periodizität des Schadens auf das Vorhandensein eines äußeren Anlasses schließen. Ist ein Erreger der Knollenbildung vorhanden, so ist wahrscheinlich, daß sich in den einzelnen Jahren Unterschiede in seinem



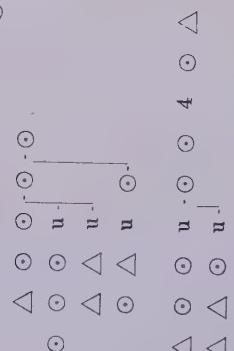
Abb. 6.  
Der an alten Stämmen auftretende horizontale tiefe Einschnitt infolge Kropfkrankheit.

**Übersicht über die Verteilung der Knollen am Zweigsystem.**

Baum A. Im Freistand erwachsene buschige Stieleiche.

△ = bedeutet einen Trieb von höchstens 2 cm Länge.

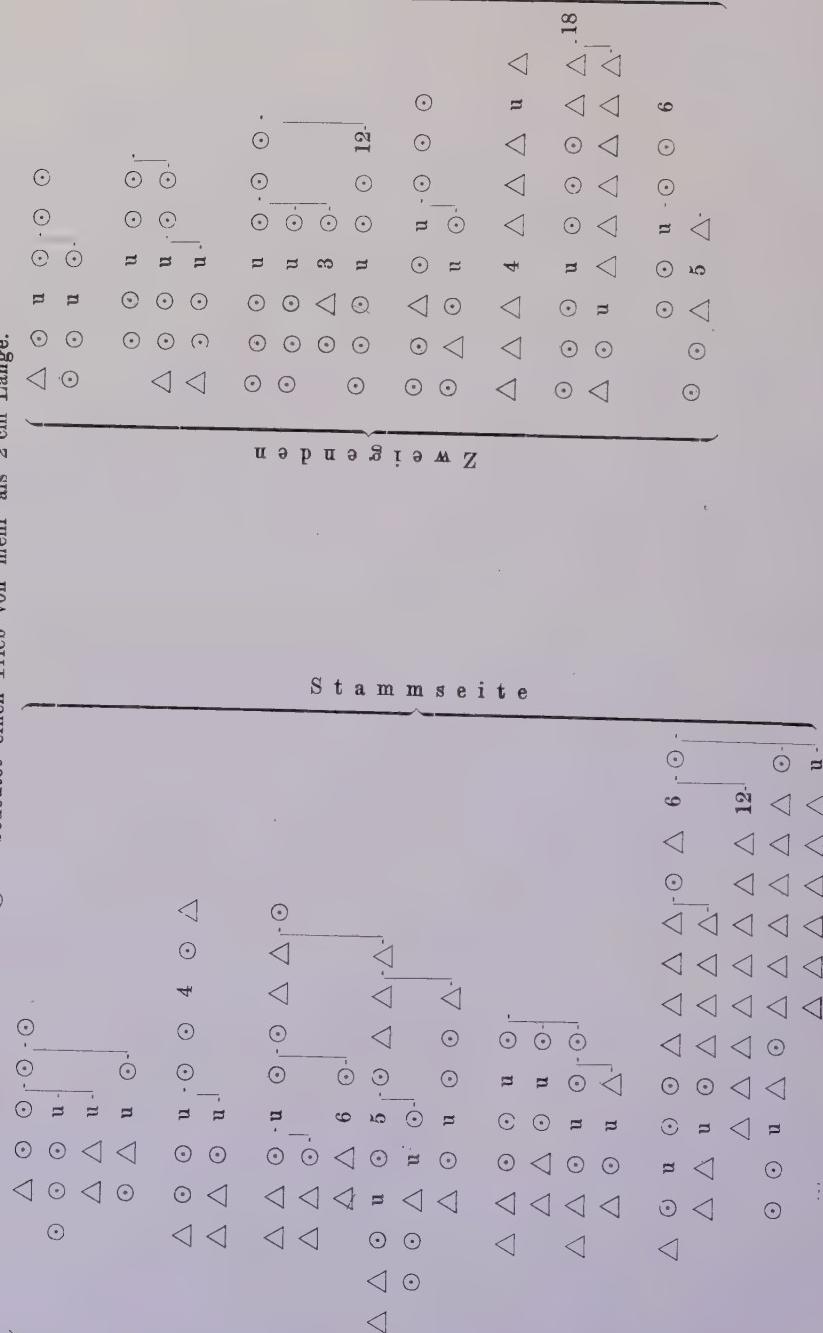
○ = bedeutet einen Trieb von mehr als 2 cm Länge.



Zweigende

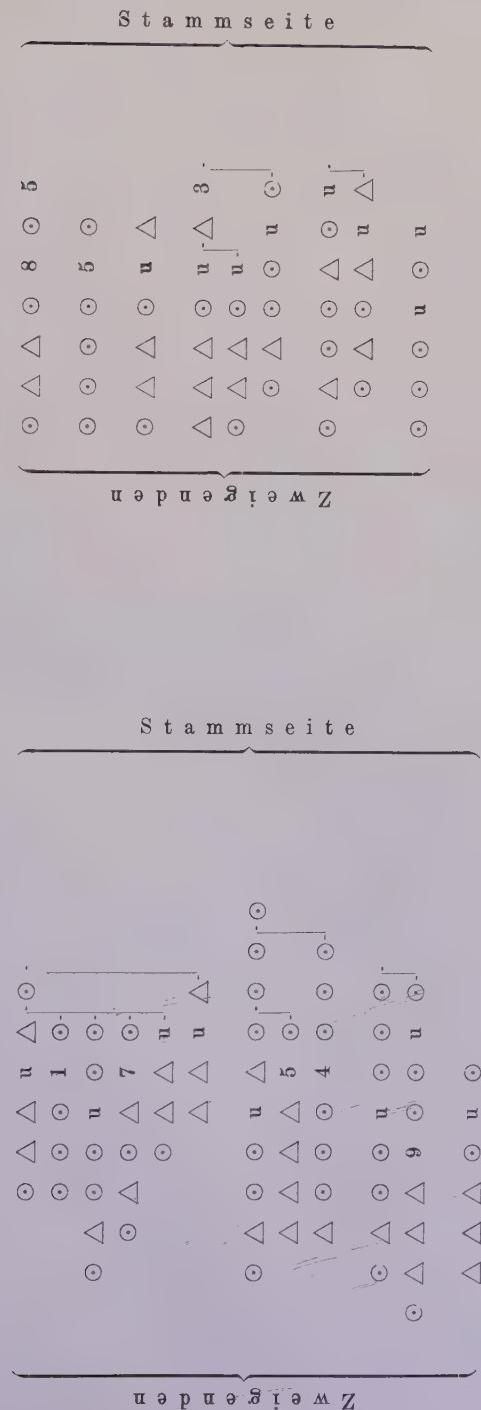
**Stammseite**

**S t a m m s e i t e**



Zweigende

Baum B. Der Eiche A benachbarte Stieleiche mit leidlichem Höhenwachstum.



Entsprechende Aufnahmen von Eichen an anderen Stellen gaben ähnliche Bilder.

Ausmaße finden, und diese müssen sich in der Häufigkeit der Knollenbildung widerspiegeln. Um hierüber ein Bild zu gewinnen, wurde in folgender Weise vorgegangen: Die Knollen jedes einzelnen Jahrestriebes — Jahrestrieb bedeutet hier den Abstand zwischen zwei Knospenruheperioden; die Eiche bildet in der Regel zwei „Jahrestriebe“ in einem Sommer — wurden gezählt und in die vorstehend wiedergegebenen Tabellen eingetragen. „u“ bedeutet das Zusammentreffen vieler Knollen, die so dicht zusammenliegen, daß man sie nicht mehr deutlich unterscheiden kann. Die oberste Zahlenreihe entspricht in jedem Beispiel der Hauptachse des Zweiges, die darunter folgenden Reihen entsprechen Seitenzweigen, deren Abzweigungsstellen durch Verbindungslinien in der Tabelle ersichtlich sind. Kämen nicht Störungen in der Entwick-



Abb. 7.

Kräpfe, die nach Absterben des kranken Kambiums überwallten.



Abb. 8.

Traubeneiche  
mit Kropfkrankheit.  
Kloster-Forstamt (Goslar.)

lung der Seitenzweige vor, so müßten diese horizontalen Zahlenreihen auf der linken Seite der Tabelle senkrecht untereinander beginnen. Alsdann wäre auch die Gewißheit gegeben, daß genau senkrecht untereinander stehende Zahlen zu Trieben des gleichen Jahres gehören. Da die horizontalen Reihen links nicht senkrecht untereinander beginnen, ist offenbar mit einer gewissen Fehlerhaftigkeit zu rechnen. Diese ist dadurch bedingt, daß manche Knospen erst nach einer Ruhezeit von mehreren Jahren austreiben, daß junge Triebe zerstört werden oder daß die Bildung des Johannistriebes unterbleibt. Späth gibt an, daß der Johannistrieb infolge schlechter Ernährung (Trockenheit) und Wurzelverletzungen ausbleiben könne (S. 51). Nach allen Beobachtungen entwickele sich „der Johannis-

trieb, besonders bei Eiche, fast ausschließlich nur aus der Terminalknospe“ (S. 53, 54). Die Fehlerhaftigkeit ist jedoch nicht so groß, daß das hier verfolgte Ziel dadurch unerreichbar würde. Die Abgrenzung der einzelnen Jahrestriebe, d. h. deren Anfang und Ende, ist bei der Eiche recht gut erkennbar. Die jüngsten „Jahrestriebe“ zeigen eine deutlichere Abgrenzung, die älteren deutlichere Knollen. Um die Fehlerhaftigkeit möglichst einzuschränken, wurden im Freistand erwachsene, stark knollige Eichen ausgesucht. Henschel (1882) zählte an einem 1,40 m hohen Busch 181 Kröpfe. So stark ist die Knollenbildung selten. Meist sind nur an einigen Jahrestrieben des ganzen Baumes Knollen zu finden, und zwar sind in der Regel auf einen oder wenige Jahrestriebe mehrere Knollen vereinigt. Die Möglichkeit, ganze Zweigsysteme aufzunehmen, war also beschränkt.

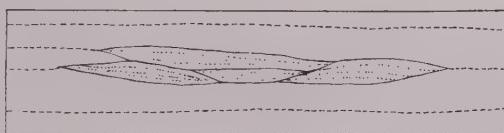


Abb. 9.

Tangentialschnitt in möglichster Nähe des Marks, der den Beginn der Kropfkrankheit bei Eiche erklären soll. Gestrichelt der Faserverlauf im gesunden Holz, punktiert der Zellverlauf im kranken Holz.

Aus den Zahlenreihen dieser Übersichten ist zu ersehen,

1. daß in manchen Perioden offenbar keine Knollen gebildet werden,
2. daß in bestimmten Zeiten die Knollenbildung an allen Zweigen in etwa gleicher Stärke einsetzt. Die Zahlen stehen zwar nicht genau untereinander, wie das im Idealfall hätte sein müssen (vgl. die vorausgegangenen Erläuterungen). Sie zeigen aber, daß an dem Zweige ein „Jahrestrieb“ besonders stark knollig ist, während vorhergehende und folgende Triebe kaum oder lange Zeit keine Knollen gebildet haben, und daß diese „Jahrestriebe“ sehr wahrscheinlich der gleichen Vegetationszeit angehören.

### 3. Die Verteilung der kranken Individuen im Bestande.

Gewisse Aufschlüsse für die Beurteilung von Erregertheorien bietet sicher auch die Verteilung der kranken Pflanzen in Saaten und Naturverjüngungen. Für eine kartenmäßige Eintragung standen mir bei Bearbeitung der Eichenkropfkrankheit nur Saaten zur Verfügung. Zwei Beispiele geben die Skizzen (Abb. 10 und 11). Die Kreise bedeuten kranke Pflanzen. Die Messungen wurden durch Abschreiten ausgeführt. Dieses Verfahren ist hinreichend genau, weil man in der Nachbarreihe mit den vorhergemessenen Punkten und am Schluß jeder Reihe eine leichte Kontrolle hat.

Es ergab sich:

1. Die erkrankten Pflanzen stehen auffallend oft benachbart. Man beachte diesbezüglich besonders die Abb. 11.

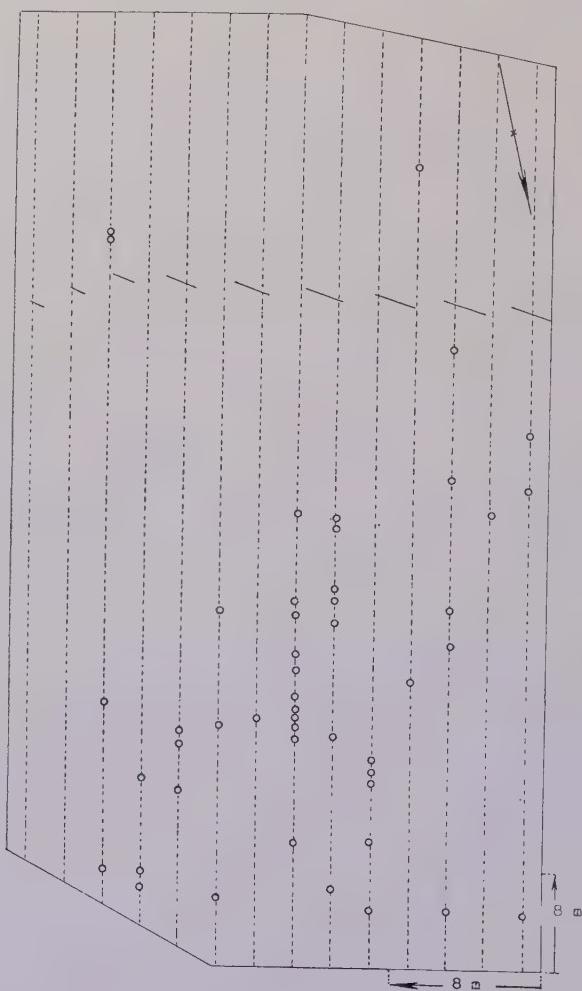


Abb. 10.

Verteilung kropfkranker Eichen im Bestand,  
(Kloster-Forstamt Goslar, Distrikt 70, 17 jährig.)  
Südlich der gestrichelten Linie ist der Bestand etwas wüchsiger.

2. Inmitten erkrankter Gruppen stehen völlig gesunde Stieleichen, obwohl die Zweige ineinander ragen. Dicht benachbarte Pflanzen zeigen die Krankheit in sehr verschiedenem Maße.
3. Tief über der Erde gezwieselte Pflanzen sind an beiden Stämmen gleich krank.

4. Herrschende und unterdrückte Stämme zeigen die Erscheinung ohne erkennbaren Unterschied.

Herrmann (1903) berichtet über eine damals 12 jährige Saat in der Oberförsterei Eberswalde (Jagen 19): „Die mit Kröpfen behafteten Stämme standen in der Regel in Gruppen zusammen, die durch gesunde Stämme oft weit von einander getrennt waren; seltener fanden sich einzelne Kropfstämme“ (S. 116).

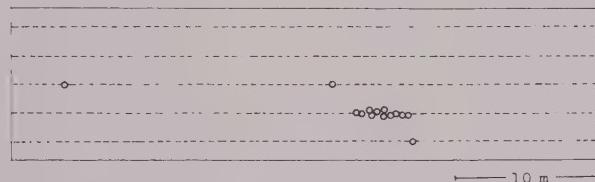


Abb. 11.  
Verteilung kropfkranker Eichen in 23 jähriger Saat.  
(Kloster-Forstamt Goslar, Distrikt 47.)

#### 4. Das Vorkommen der Eichenkropfkrankheit.

Die Eichenkropfkrankheit findet sich nach den bisherigen Beobachtungen in jeder ungeläuterten Stieleichensaat wenigstens an einigen Eichen.

Herrmann (1903) teilt nach den Angaben des Forstmeisters Moehring mit, daß im Oderwald bei Poppelau (Schl.) die Hälfte der Eichen der Kropfkrankheit anheim gefallen sei. Herrmann untersuchte die Krankheit in der Oberförsterei Eberswalde. Laubert (1909) beobachtete die Krankheit im Grunewald „nicht selten“. Graf v. Finckenstein (Trossin 1912) gibt an: „Hier ist ein Bestand von 350 Eichen, darunter allerdings nur 10 Traubeneichen im Alter von 35 Jahren. Von den Stieleichen sind 34 % an Krebs erkrankt, von den Traubeneichen keine . . . Meine Stieleichenbestände weisen viel Krebs auf, meine Traubeneichenbestände keinen einzigen . . .“ Régaméy (1914) fand die Krankheit im „parc de Versailles“. Cieslar (1915) berichtet ihr Vorkommen hauptsächlich in jungen Saaten des fürstlich Thurn und Taxisschen Forstamtes Lekenik in Kroatien.

Die Krankheit wurde von mir beobachtet in den Forstämtern Düsseldorf-Benrath, Goslar (Kl.-F.), Hemeln, Kattenbühl, im Stadtwald Rheinbach (Eifel), in der Umgebung von Oderin (südlich von Berlin). In einer natürlichen Verjüngung (Eichenreinbestand) bei Hofgeismar sind stellenweise mehr als die Hälfte der Eichen kropfkrank.

Zusammenfassend darf gesagt werden, daß die Krankheit nur in wenigen Revieren großen Schaden anrichtet — nur selten sind mehr als 10 % der Stämme kropfkrank —, daß die Krankheit aber sehr verbreitet ist.

Die Theorie der Entstehungsursache bleibt nicht unberührt von der Frage, ob die Krankheit wirklich nur an Stieleiche vorkommt, wie man

aus den Angaben von Graf v. Finckenstein schließen kann. Als Unterscheidungsmerkmale für Stiel- und Traubeneiche werden geltend gemacht: Traubeneiche liegt vor, wenn sehr deutlich die für die Traubeneiche bekannten makroskopischen Merkmale (Blattdicke und -glanz, Stielänge, Ansatz der Blattspreite, Verlauf der Blattadern, Lappung) in Erscheinung treten und die Blattspreite viele Sternhaare auf der Unterseite zeigt; Stieleiche, wenn die makroskopischen Merkmale keinen Zweifel lassen und die Sternhaare fehlen (siehe auch Oehlkers, 1913). Legt man diese Unterscheidung zugrunde, so findet sich die Kropfkrankheit an ausgesprochener Stiel- und ausgesprochener Traubeneiche. Die Traubeneiche wird aber außerordentlich selten davon betroffen.

### 5. Der Aufbau des gesunden Eichenholzes.

Während in den vorhergegangenen Abschnitten die äußere Erscheinung der Eichenkropfkrankheit dargestellt worden ist, soll im Folgenden der anatomische Bau der Knolle behandelt werden. Bevor an eine Betrachtung des kropfkranken Holzes gegangen wird, soll auf einige Eigenarten des gesunden Eichenholzes verwiesen werden.

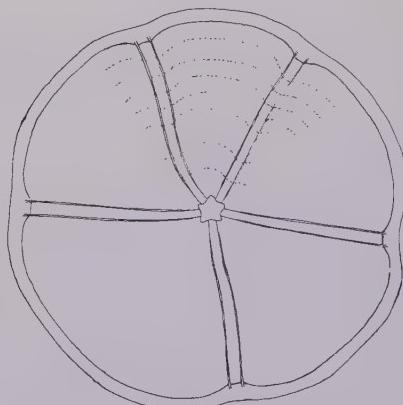


Abb. 12.

Querschnitt durch gesunden Eichenstamm, welcher die typische Lagerung der zuerst gebildeten breiten Markstrahlen zeigt.

Der Veranschaulichung der grundsätzlichen Lage von breiten Markstrahlen und Faserelementen am jungen Zweige diene die Abb. 12, die den Querschnitt durch einen achtjährigen Eichenstamm darstellt. Im Innern liegt die fünfstrahlige Markkrone. Zwischen je zwei Ecken derselben entspringen zwei breite Markstrahlen. Diese Markstrahlen laufen nahezu parallel bis zur Peripherie des Schnittes. Dabei fällt neben diesem parallelen Verlauf das starke Einspringen der Jahrringe zwischen den

Grenzen dieser Markstrahlen auf. Das Holz im genannten Bereich enthält sehr viele einreihige Markstrahlen. In den späteren Jahrringen entstehen dann weitere breite Markstrahlen, die aber keine solche Gesetzmäßigkeit zeigen. Die axillären Knospen finden sich stets den Ecken der Markkrone gegenüber. Die gegebene Beschreibung trifft für Stieleiche und Traubeneiche zu. Doch ist eine solche Regelmäßigkeit nicht immer vorhanden, da die genannten vom Mark ausgehenden Markstrahlen zuweilen auch erst in späteren Jahrringen beginnen.

Danach seien die einzelnen Zellelemente in ihrem Wesen kurz erläutert, soweit mir die Literatur hierüber bekannt wurde. Diese Literatur ist außerordentlich zersplittert, besonders in Hinsicht auf die Markstrahlen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine besondere Bedeutung haben.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Gestalt der Derivate einer Kambiumzelle sich sehr ändern kann. Das ist besonders bei den Hölzern der Dikotylen der Fall. Für die anatomische Untersuchung der Eichenknollen interessiert die Frage: Wie groß sind diese Unterschiede der Gestalt und damit der Funktion?

Abromeit (1884), der sich mit der Bestimmung von verschiedenen Eichenhölzern befaßte, beschreibt in gesonderten Abschnitten „Gefäße“, „Übergangszellen“, „Holzspitzzellen“ und „Holzstumpfzellen“. Er beobachtete für eine Anzahl von Eichenarten (besonders *Quercus dilatata* Lindl.) das Verschwinden der breiten Markstrahlen gegen die Peripherie des Stammes, indem sie von recht zahlreichen Holzspitzzellen und Stumpfzellen, seltener von Gefäßen durchsetzt werden. Es seien dies die aussetzenden Markstrahlen Hartigs (Bot. Zeitg. 1859, S. 94). (S. 213.) Wie dieses Durchsetzen erfolgt, wird nicht angegeben.

Eames (1910), der sich im wesentlichen mit der Phylogenie der breiten Markstrahlen der Eiche befaßt, gibt über die Bildung der breiten Markstrahlen im älteren Holz an: „In the wood of the mature plant the large ray is formed more abruptly, and is not so much the result of fusion of smaller rays, as of the transformation of small tissue, within a region of the size of the ray to be formed, into ray parenchyma, such change being rather abrupt and occurring largely at the beginning of a season's growth“ (S. 165).

Eames schließt also aus dem plötzlichen Entstehen breiter Markstrahlen, daß dieselben nicht so sehr das Ergebnis einer Vereinigung kleinerer Markstrahlen sind wie vielmehr der Umwandlung von Holzfaserinitialen in Markstrahlinitialen. Das plötzliche Auftreten breiter Markstrahlen ist sehr oft zu beobachten und auch aus der Abb. 5 ersichtlich.

Die Untersuchungen R. Hartig's (1894) über den Markstrahlgehalt des Holzes in verschiedenem Alter und aus verschiedenen Baumteilen seien nur erwähnt.

Hier werde noch angeführt, daß Holz, welches aus statischen Gründen, wie z. B. an der Oberseite der Äste (Epinastie), schneller gewachsen ist, in diesem Teil wenig Markstrahlen bildet.

Die Markstrahlzerteilung wird später eingehender behandelt werden.

#### 6. Das kranke Gewebe des Eichenkropfes und das benachbarte gesunde Gewebe.

##### a) Die Erklärung für die seitliche Ausdehnung der Krankheit.

Wie schon im Vorhergehenden bemerkt wurde, beginnt die Krankheit mit einer Vermehrung der radialen Reihen an einer winzigen Stelle im ersten Jahresring. Diese ist zuweilen sehr früh als dunkler Punkt erkennbar. Rein theoretisch wäre es wohl denkbar, die Derivate dieser Zellen zu verfolgen, wie Klinken und andere einzelne Zellen in regelmäßiger gebauten Hölzern, wie z. B. den Koniferenhölzern, auf Serienschnitten in ihrer Entwicklung verfolgten. Praktisch ist das bei der Eiche, deren Knollen sich schon in jugendlichem Alter sehr stark wölben, unmöglich, weil die Anfertigung eines Schnittes, der auch nur für einen kleinen Raum in derselben Zellschicht liegt, versagt.

Während sich das kranke Gewebe der Knolle nach oben hin weniger deutlich absetzt, ist besonders die seitliche Grenze scharf durch einen Wirbel gekennzeichnet, dessen Achse naturgemäß senkrecht zur Stammachse liegt und von dem die Abb. 13 (links oben) eine gute Vorstellung vermittelt. Die Entstehung dieses Grenzwirbels soll später als Beispiel für die Wirbelbildung bei den Eichenkröpfen genauer dargelegt werden.

Wie erklärt sich die geringe Ausdehnung des kranken Gewebes in der Längsrichtung des Stammes gegenüber der starken in der Querrichtung? Ein genau durch den Grenzwirbel und die winzige Anfangsstelle gelegter Querschnitt überzeugt, daß der kranke Holzteil aus den Derivaten der ersten kranken Zellen bestehen muß, da die Grenze des kranken Holzes den Markstrahlen genau gleich läuft. Diese Tatsache ist dadurch leicht zu erkennen, daß das benachbarte gesunde Gewebe im Faserverlauf sehr verändert ist. Deshalb führen ein wenig zu hoch oder zu tief gelegte Schnitte zu der Vorstellung, die Krankheit greife in seitlicher Richtung auf gesunde Zellen über. Dieser Gefahr entgeht man am besten, wenn man die Rinde entfernt, den Grenzwirbel beachtet und durch allmähliches Nachschneiden den winzigen Anfangspunkt aufsucht. Wie im Folgenden genauer erläutert wird, ergibt sich die eigenartige Gestalt

der Eichenkröpfe gerade aus der Tatsache, daß abnorme Eigenschaften von den kranken Kambiumzellen auf ihre Derivate übertragen werden.

Über die Art der Teilungstätigkeit von gesunden Kambiumzellen haben zahlreiche Arbeiten bis in die Gegenwart die folgende Vorstellung begründet: 1. Das Dickenwachstum erfordert Vermehrung der Zellen in radialer und in tangentialer Richtung. In radialer Richtung erfolgt diese durch Anlage tangentialer Wände, in tangentialer Richtung durch horizontale Teilungen in Verbindung mit gleitendem Wachstum. Diese zunächst von Klinken (1914) für die Koniferen nachgewiesene Vorstellung wurde später von Neeff (1920) für die Dikotylen verallgemeinert (S. 251) und wird von Beijer (1927) erneut bestätigt. Das Gesetz bedeutet, daß alle Derivate einer Kambiumzelle ungefähr in einer horizontalen Ebene angeordnet sind. 2. Die Vermehrung der Zellen in radialer Richtung geschieht senkrecht zur Peripherie des Kambiums, solange der Stamm nicht Mulden hat. Das wird deutlich durch die Tatsache, daß die Markstrahlen die Jahrringe ziemlich genau senkrecht durchqueren. Erklärt mag diese Erscheinung werden durch die Ansicht Beijers: „Wenn infolge der vom Dickenwachstum verursachten Größenzunahme des Xylemzylinders der Kambiummantel zu eng und also passiv gespannt wird, werden die Kambiumzellen einen tangential gerichteten Reiz empfinden müssen“ (S. 764). Wächst der Stamm auf einem Teil der Kambiumperipherie schneller in die Dicke, so nimmt die Breite dieses Kambiumstückes mehr als linear zu. In den Abbildungen 5 und 14 verlaufen also an solchen Stellen die Markstrahlen gebogen. Abb. 14 zeigt, daß bei konkavem Verlauf der Kambiumperipherie die Jahrringe von den Markstrahlen schief durchschnitten werden.

Bleibt die Krankheit auf die Abkömmlinge weniger anfänglich erkrankter Zellen beschränkt — das müssen wir auf Grund des Querschnitts durch Eichenkröpfe annehmen —, so ergibt sich aus Satz 1, daß die Krankheit in der Längsrichtung des Stammes eine geringe Ausdehnung erfahren muß, während Satz 2 die Breite des Kropfes, welcher oft die Hälfte und mehr der Kambiumperipherie auf dem Querschnitt durch den Sproß einnimmt, erklärt.

### b) Die Bildung des Grenzwirbels.

Als Eigenarten kranken Gewebes in den Eichenkröpfen wurden genannt vermehrtes Wachstum in radialer Richtung und damit auch in tangentialer, sowie das Fehlen breiter Markstrahlen. Dadurch entsteht offenbar in der Knolle eine Anhäufung gestreckter Zellen im Verhältnis zu der Umgebung, welche auf die gesunden Zellen des benachbarten Kambiums einen Reiz ausübt, sich möglichst mit den kranken zu Zellzügen zu vereinigen. Abbildung 13 (links oben) gibt recht deutlich zu erkennen,

wie der Faserverlauf von oben seitlich in die Knolle einbiegt und unten entsprechend wieder ausbiegt. In dem Winkel entsteht der Grenzwirbel. Seine Entwicklung soll an fünf Serienschnitten verfolgt werden (Abb. 16 bis 20). Abbildung 15 erkläre die Lage der Schnitte, die im Übrigen nach dem Muster von Klinken, Neeff u. a. gefertigt wurden. Die Knolle war



Abb. 13.

Links oben: Seitenansicht einer entrindeten Eichenknolle.

Links unten: Aufsicht auf geglättete Knolle.

Rechts: Entrindete junge Eichenkröpfe.

fünfjährig und hatte einen Durchmesser von ungefähr 12 mm. Abbildung 16 gibt den innersten Schnitt, der in 5 mm Entfernung vom Mark liegt, und Abbildung 20 den äußersten Schnitt, der in 7 mm Abstand geführt wurde wieder. In den Abbildungen liegt die Knolle auf der linken Seite, das gesunde Gewebe rechts. Auf Schnitt 1 (Abb. 16) sind keine wesentlichen Veränderungen zu beobachten. Schnitt 2 (Abb. 17) zeigt beginnende Zergliederung des breiten Markstrahls durch Faserelemente. Der breite Markstrahl ist quer schraffiert, wie auch in allen folgenden Abbildungen größere Komplexe von Markstrahlgewebe schraffiert dargestellt werden. Schnitt 3 lässt immer weiter fortschreitende Auflösung des Markstrahls erkennen. Schnitt 4 (Abb. 19) wurde nur bis auf den vom breiten Markstrahl ab-

gesonderten Teil dargestellt. Der Faserverlauf ist sehr verschlungen, aber doch nicht gesetzlos. Links sieht man den Beginn der Wirbelbildung. In Abbildung 20 (Schnitt 5) ist die Markstrahlauflösung am meisten fortgeschritten. Auf der linken Seite liegt ein regelmäßiger Wirbel. Nicht in allen Fällen hat er dieses Aussehen. Oft liegen mehrere Wirbel neben-

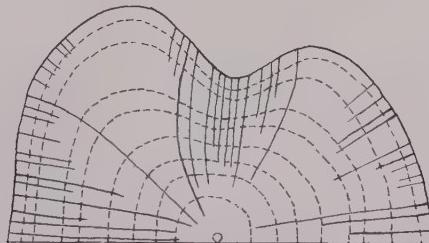


Abb. 14.

Schnitt durch Haselnuß-Stamm mit konkavem Jahrringverlauf.

einander, welches besonders bei den Wirbeln auf der Unterseite der Knolle der Fall ist.

### c) Aus welchen Elementen wird der Wirbel gebildet?

Da auf den Serienschnitten die entsprechenden Zellen nicht verfolgt werden können, kann auch nicht behauptet werden, woher die gestreckten Zellen im Markstrahlgewebe röhren. Abb. 21 und 22 (Ausschnitte aus Abb. 18 und 20) lassen vermuten, daß hier Umwandlung von Markstrahlinitialen in gestreckte Initialen vorliegt. Man kann sich schlecht vorstellen, daß sich diese Zellen zwischen das Markstrahlgewebe geschoben hätten. Obwohl die Frage einer solchen Umwandlung schon mehrfach zu einer genauen Prüfung hätte Veranlassung geben müssen, ist sie m. W. nur bei Behandlung der Markstrahlzerteilung berührt worden. Folgende Möglichkeiten bestehen beim Auftreten gestreckter Zellen im Bereich breiter Markstrahlen:

1. Die breiten Markstrahlen werden mechanisch dadurch gespalten, daß sich gestreckte Initialen zwischen die Markstrahlinitialen schieben.
2. Markstrahlinitialen strecken sich und werden zu Holzfaserinitialen.

Jost (1901) beobachtete am Astansatz von Rotbuche, wo naturgemäß Kambiumverkürzung eintritt, „in allen mehr peripherischen Tangentialschnitten immer an der gleichen Stelle eine Unterbrechung der Markstrahlen, an der sie in einem mehr zentral gelegenen Schnitt zuerst beobachtet wurde. Dies ist nur möglich, wenn die Zerteilung der Markstrahlen nicht erst im Jungholz stattfindet, sondern schon

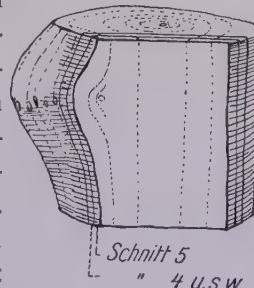


Abb. 15.

im Kambium“ (S. 17). Er schrieb der mechanischen Zerteilung durch Eindringen von gestreckten Initialen zwischen die der Markstrahlen große Bedeutung zu (S. 18), hielt die Umwandlung von Markstrahlinitialen in gestreckte aber auch für oft gegeben (Seite 17). Zijlstra (1908) unterscheidet kleine und große Markstrahlen, je nachdem sie erst im Laufe

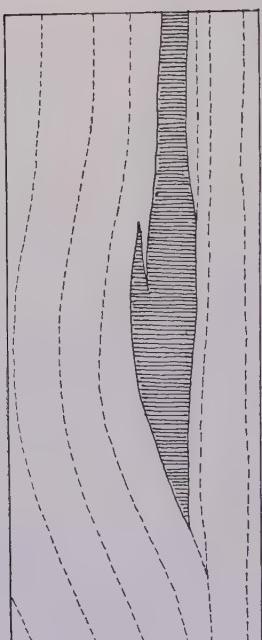


Abb. 16.

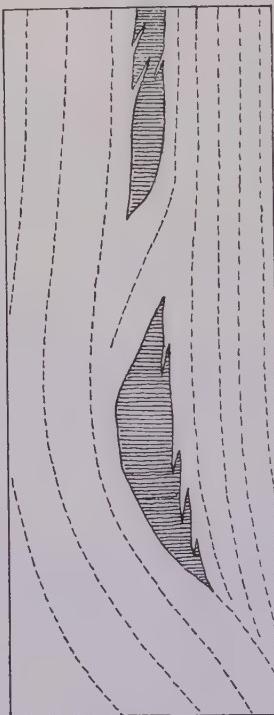


Abb. 17.

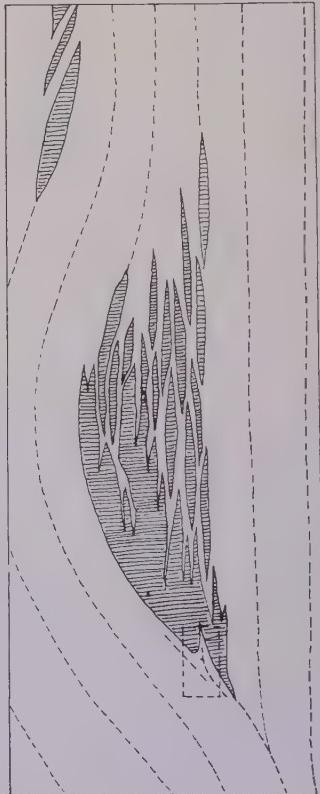


Abb. 18.

des Dickenwachstums des Stammes entstehen oder mit dem Mark in Verbindung stehen (Seite 20) und fand: „Es treten in den kleinen Markstrahlen oft Unterbrechungen durch schief laufende Faserschichten auf . . . Anfänglich nur durch wenige Fasern getrennte kleine Markstrahlen, die übereinander stehen, können weiter nach dem Kambium zu ganz verschmelzen und sodann einen einzigen Markstrahl darstellen . . . Die Markverbindungen lösen sich auf in große Markstrahlen, die wie bei *Fagus sylvatica* L. in tangentialer Richtung immer weiter auseinanderbiegen, oder wie bei *Aristolochia Siphon* L'Herit, selbst in älteren Stämmen noch gerade übereinander stehen“ (Seite 48). Wie die Markstrahlzersetzung vor sich geht, ist seiner Arbeit nicht zu entnehmen. Neeff (1922) zeigte, wie bei Umlagerung der Zellen von *Tilia*:

1. „die Markstrahlen . . . von den kurzen beweglichen Kambiumzellen durchwachsen und überwachsen werden“ (S. 207) — „im allgemeinen kann nur in ihm (Kambium) die gewebliche Lageveränderung ihren Ausgang nehmen“ (S. 207), — und erklärte
2. an Serienschnitten durch einen breiten Markstrahl, „daß der ursprünglich einheitliche Markstrahl in drei Teilstrahlen zerfallen ist, und zwar nicht nur durch Hereinwachsen prosenchymatischer

Zellen von außen . . . , sondern auch durch Auswachsen einzelner zu Fasern umgebildeter Markstrahlelemente . . . , von innen heraus“ (S. 208).

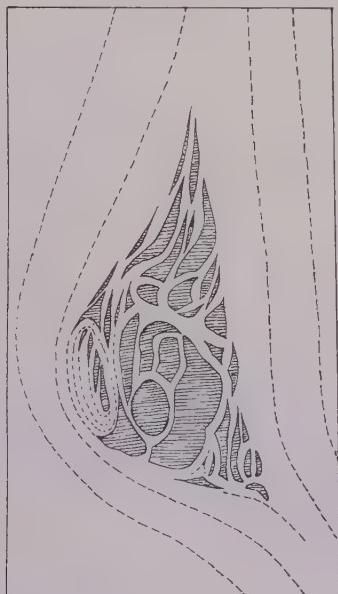


Abb. 19.



Abb. 20.

Im Folgenden soll gezeigt werden, wie das Loslösen von Teilen eines breiten Markstrahls durch Strecken von Markstrahlinitialen im Eichenholz erfolgt. Das Beispiel ist dem gesunden Holz aus der Nähe eines Wirbels entnommen. Die Abbildungen 24 bis 28 zeigen die Entwicklung in der Reihenfolge vom Stamminnern nach außen. In Abb. 24 tritt in der oberen rechten Ecke des dargestellten Markstrahlparenchyms eine gestreckte Zelle auf, über deren Herkunft man im Zweifel sein kann. Das Markstrahlgewebe zeigt sonst keine Besonderheiten. Abb. 25 gibt den interessanten Fall wieder, daß sich mitten im Markstrahlgewebe, also ohne Verbindung zu den Geweben außerhalb desselben, Zellen von gestreckter Form finden. Es kann kein Zweifel bestehen, daß diese Zellen gestreckte Zwischenformen der Umwandlung sind. In Abb. 26 endigt der Zug gestreckter Zellen auf der einen Seite noch mitten im Parenchym. An Abb. 27 ist die seitliche Loslösung des Markstrahlteils durchgeführt. Der folgende Schnitt (Abb. 28) zeigt dieselbe Stelle,

liegt aber etwa vier Schnittdicken weiter nach außen. Man sieht, daß dieselbe Entwicklung unten von neuem beginnt.

Die allgemein bestehende „Annahme, daß sich Markstrahlelemente nicht mehr in lange Faserzellen zurückdifferenzieren können“, kann auf Grund der Beobachtungen von Neeff (1922, S. 207) und der soeben mitgeteilten Verhältnisse in der Nähe kropfkranken Holzes als unbegründet abgelehnt werden. Es besteht also die Möglichkeit, daß sich gestreckte Kambiumzellen durch Teilung in Markstrahlinitialen umwandeln (vergl.

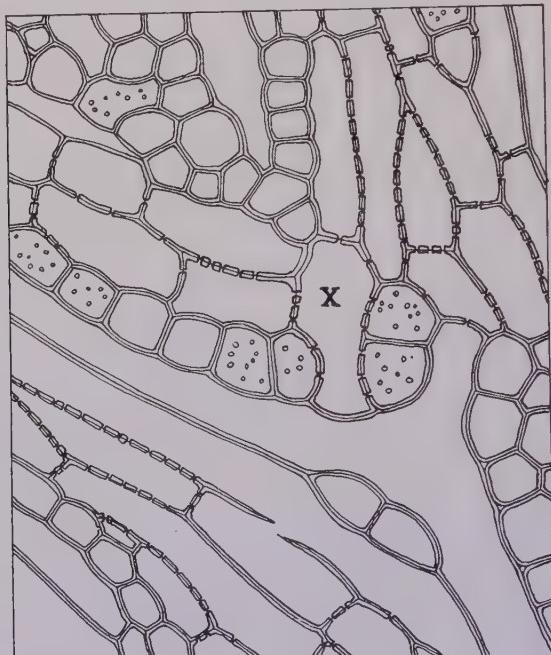


Abb. 21.

insbesondere Eames und für die Etagenhölzer Beijer, 1927), daß sich aber auch umgekehrt Markstrahlinitialen durch Strecken in Holzfaserinitialen verwandeln können.

Der Grenzwirbel wird also aus gestreckten Markstrahlinitialen gebildet. Ganz ähnliche Bilder gewinnt man beim Schnitt durch die Wirbel, die sich am unteren Rande des kranken Gewebes besonders zahlreich finden und meist den Endigungen der breiten Markstrahlen vorgelagert sind. Offenbar macht sich in der Nähe des Kropfes der Reiz, gestreckte Zellen zu bilden, besonders bemerkbar. Da diese Zellen keinen Anschluß finden, legen sie sich zu Wirbeln zusammen.

d) Die Änderung der Zellgestalt bei der Umwandlung der Markstrahlinitialen in gestreckte Initialen.

Als wesentliches Merkmal gestreckter Zellen erkannten Neeff und vor ihm Vöchting und Krick das folgende Gesetz: Gleichnamige Zell-

pole (die Zelle soll entsprechend dem wachsenden Organ polarisiert sein) stoßen sich ab; ungleichnamige ziehen sich an und wachsen „mit ihren Polen nicht nebeneinander, sondern zwischeneinander“ (Neff 1922, S. 258).

Es ist bekannt und auch leicht zu ersehen, daß das Markstrahlgewebe gesunden Holzes nicht ein gleichförmiges Parenchym wie z. B. das Speichergewebe vieler Früchte usw. ist, sondern in der radialen Richtung des Stammes gestreckt ist. In den vielschichtigen Markstrahlen zeigen die inneren Elemente fast faserförmig gestreckte Formen.

Die Umwandlung von Markstrahlinitialen in gestreckte Initialen bedeutet also nicht nur eine Änderung der Gestalt, sondern gleichzeitig auch eine Änderung der Streckungsrichtung. Den Vorgang genauer zu untersuchen, kann nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein. Es sei nur auf Folgendes hingewiesen. Die Streckung erfolgt nicht plötzlich,

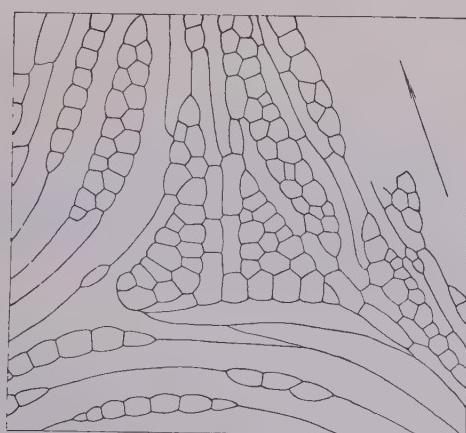


Abb. 22.

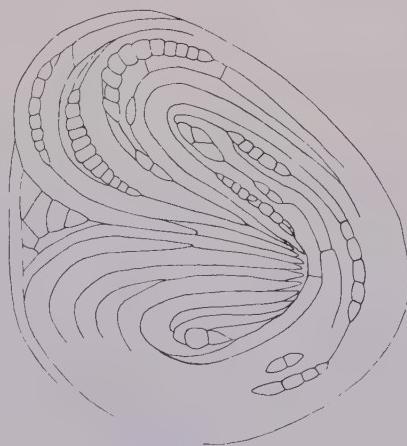


Abb. 23.

und infolgedessen nehmen die Derivate dieser gestreckten Markstrahlinitialen auch allmählich die Eigenschaften völlig gestreckter Zellen an. Abb. 21 stellt einen Ausschnitt aus Abb. 18 dar (in Abb. 18 bezeichnet). Man sieht, wie eine kurze gestreckte Zelle (mit X versehen) noch nach verschiedenen Richtungen Verbindung aufnehmen kann. Erst typisch gestreckte Zellen scheinen dem oben genannten Gesetz zu gehorchen. Interessant ist auch die Abb. 23, die offenbar dem zweiten Teil des Gesetzes widerspricht, indem hier entgegengesetzte Pole nicht zwischeneinander, sondern nebeneinander wachsen. Der innerste Teil dieses Wirbels ist also nicht ein in sich geschlossener Zellzug. Neeff hat das Gesetz aber so eingehend nachgewiesen, daß hier nicht Zweifel dagegen erhoben werden sollen, zumal der innere Teil der Wirbel an den Eichenkröpfen wechselndes Aussehen hat und Zellstauung solche Abweichungen ermöglicht (Neff, 1922, S. 244 ff.).

7. Literaturangaben über die breiten Markstrahlen und deren Bedeutung für die Eichenkropfkrankheit.

Durchblättert man ganz allgemein die Literatur über die Knollen-, Gallen- oder Kropfbildungen, so findet man überraschend häufig, daß den Markstrahlen und dem Holzparenchym Wucherungsvermögen zugeschrieben wird. Die folgenden Angaben sollen die bisherige Ansicht über die Markstrahlen in den Eichenkröpfen widerspiegeln.

Henschel (1882) schreibt über die Eichenkröpfe: „Der Markkörper ist teilweise verschwunden, durch Holzfaserbildung verdrängt; dagegen sind die Markstrahlen auffallend breit und zahlreich vorhanden, gegen das Kambium stark protuberierend, daher die letzten Holzringe an ihrer Herbstholzgrenze unregelmäßig ausgezackt und gezähnelt erscheinen lassend. Infolge Überwiegens der Markstrahlen treten die Gefäßbündel zurück und die Poren sind sowohl der Größe als Zahl nach nur in geringem Maße vertreten; der Charakter der Ringporigkeit verschwindet; . . .“ (S. 58.)

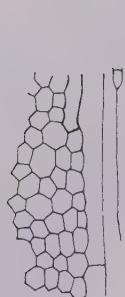


Abb. 24.

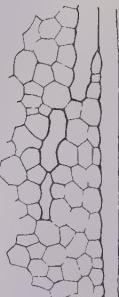


Abb. 25.

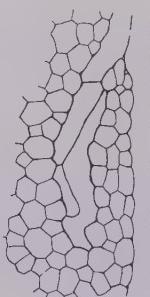


Abb. 26.

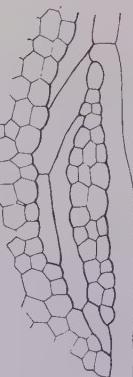


Abb. 27.

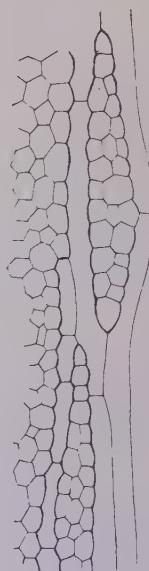


Abb. 28.

Herrmann (1904), der im Anfang seiner Arbeit auch starke Anschwellung der Markstrahlen als eine Entstehungsmöglichkeit für Kröpfe anführt (S. 114), berichtet über die Knolleneiche: „. . . die Parenchymzellen und die sekundären Markstrahlen nehmen an Zahl zu; die breiten Markstrahlen sind oft von außerordentlicher Breite, so daß, bei dem geschwungenen Verlauf derselben, auf schmalen Radialschnitten es oft den Anschein hat, als finge der neue Jahresring mit einem in der Längsanstatt in der Querrichtung verlaufenden Markstrahl an“ (S. 117).

Laubert (1909) läßt die breiten Markstrahlen bei Behandlung der Eichenkropfkrankheit unerwähnt.

Schlumberger (1934) gibt eine Abbildung aus dem Aufsatz von Laubert wieder (S. 204), die die hier behandelten Eichenkröpfe zeigt,

und schreibt allgemein über Kropfmaserbildung, es kämen für solche zwei Entstehungsmöglichkeiten in Betracht: 1. Beteiligung von Knospen, 2. Markstrahlwucherung. Er versucht, die Markstrahlwucherung zu erklären mit Hilfe der Theorie von Kny (1902) über die Wirkung von Zug und Druck auf die Richtung der Teilungswand in Zellen (S. 203, 211). Hierzu sei bemerkt, daß Kny (1902, S. 74) dem von ihm aufgestellten Gesetz keine Zuverlässigkeit für die Zellen höherer Pflanzen zubilligt.

Die allgemein herrschende Ansicht über die Eichenkröpfe gleicht der von Küster (1916) wiedergegebenen Vorstellung über die Pilzgallen usw.,

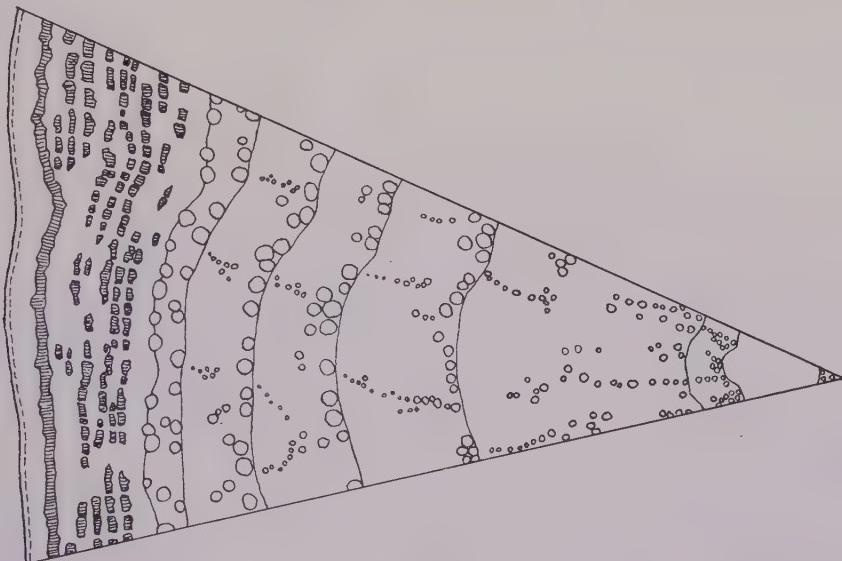


Abb. 29.

## Querschnitt durch Eichenzweig mit Kropf.

Das Bild des gesunden Teils mit vielen sklerenchymatischen Elementen in der Rinde und ausgesprochener Ringporigkeit des Holzes (vergl. Abb. 30).

die auch häufig zutreffen mag: „Die abnorm starke Förderung der parenchymatischen Anteile kennzeichnet die sekundären Gewebe der Pilzgallen ebenso wie die der Zoozezidien, sie macht sich im Holz ebenso bemerkbar wie in der Rinde.“ Dadurch, „daß hier und da jugendliche Derivate des Kambiums anstatt zu prosenchymatischen Xylelementen heranzuwachsen, sich segmentieren und Gruppen parenchymatischer Zellen liefern oder daß die Zellen des Kambiums selbst sich querteilen und bei weiteren Teilungen parenchymatische Produkte entstehen lassen,“ könne es zu einer Verbreiterung der Markstrahlen kommen (S. 196).

Für die Eichenkröpfe hat diese Vorstellung jedenfalls keine Geltung, da das kropfkranke Holz nur einreihige Markstrahlen enthält.

### 8. Die Veränderungen in der Rinde.

Bei der Besprechung des makroskopischen Krankheitsbildes wurde schon erwähnt, daß das kranke Rindengewebe sehr weich und schwammig ist. Der Grund liegt in dem Fehlen jeglicher Sklerenchymelemente, wie das die Abb. 30 und 31 zeigen. Abb. 29 und 30 sind Ausschnitte aus demselben Querschnitt bei gleicher Vergrößerung. Färbt man den Schnitt mit Phloroglucin und Salzsäure, so fällt der Unterschied genau so stark auf wie in den Abbildungen. Im gesunden Rindenabschnitt liegt außen ein Mantel von Sklerenchymzellen, dann folgen Sklerenchymfasern mit Geleitzellen und abermals Sklerenchymzellen und Sklerenchymfasern. Das zeigt auch Abb. 31, die einen Längsschnitt durch gesundes und krankes

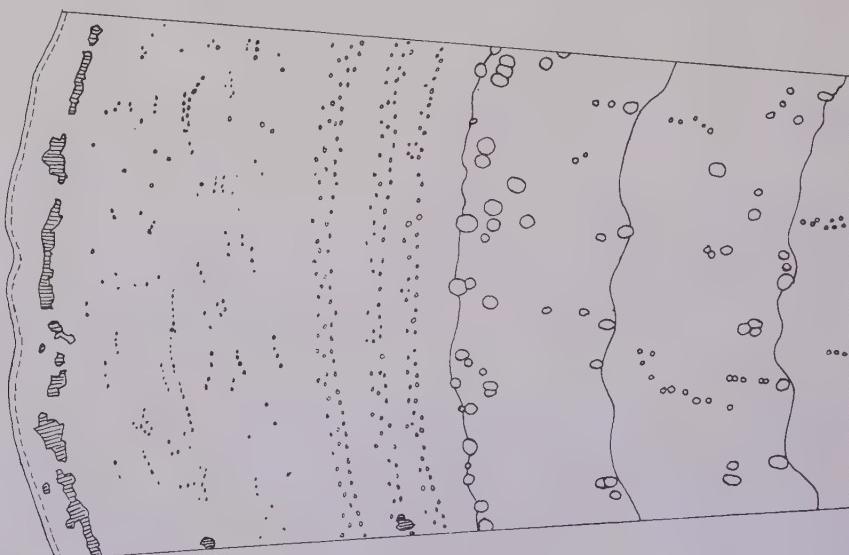


Abb. 30.

Querschnitt durch Eichenzweig mit Kropf.

Der kropfkranke Teil des in Abb. 29 wiedergegebenen Schnittes.

Gewebe darstellt. Im kranken Rindenabschnitt arbeitet das Phellogen genau so stark wie im gesunden, solange der Zweig durchschnittlich nicht dicker als 2,5 cm ist. Die äußerste Schicht der Sklerenchymzellen ist genau so ausgebildet wie unter normalen Umständen. Dann aber folgt ein Gewebe, das überhaupt keine verholzten Zellwände aufweist und reich an großlumigen Parenchymzellen mit braunem Inhalt ist.

Tangentialschnitte durch das kranke Rindengewebe zeigen, daß die Struktur desselben der des darunter liegenden Holzes völlig gleicht. In den dem Kambium nahen Schichten sieht man genau die gleichen Wirbel usw. wie im Holz. Die dem Kambium fernen Schichten, also außen liegenden Rindenteile, zeigen insofern eine Abweichung, als die gestreckten Zellen durch breite Parenchymstreifen voneinander getrennt

sind. In der Rinde findet ein starkes Dilatationswachstum der Markstrahlen statt, welches sich von dem in der Lindenrinde durch eine gewisse Unregelmäßigkeit unterscheidet. Es lässt sich auf dem Querschnitt durch den Stamm nicht gut erkennen.

In seltenen Fällen findet man in der Rinde der Eichenkröpfe Holzknollen. Unter zahllosen quergeschnittenen Knollen fand ich sie nur sechsmal. Leider zerstört man dieselben sehr leicht, da den Eichen-

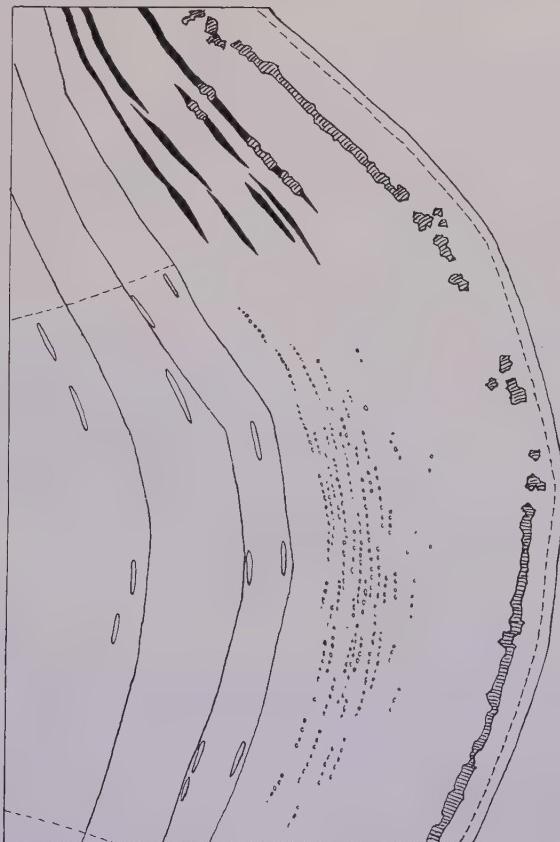


Abb. 31.  
Radialer Längsschnitt durch Eichenkropf.

kröpfen äußerlich nichts anzusehen ist. Die jüngste und damit am wenigsten entwickelte Knolle gibt Abb. 32 wieder. Sie stellt den Querschnitt durch einen siebenjährigen Zweig von 3,4 cm Stärke dar. Die Knolle war zwei Jahre alt, wie das auch in der Abbildung angedeutet ist. Das Bild des Längsschnittes kann nicht genau wiedergegeben werden, doch hatte der Holzkörper eine größere Ausdehnung in der Querrichtung des Astes als in der Längsrichtung. Eine Verbindung zum Holze des Stammes bestand nicht. Abb. 33 zeigt eine etwas ältere Knolle, die durch

Zufall völlig unversehrt blieb. Alles Rindengewebe wurde vorsichtig entfernt. Dabei zeigte sich, daß dieses Gebilde mit dem benachbarten Holzknoten (in der Abb. 33 rechts) nur in sehr lockerer Verbindung stand. Die Annahme, dieser flächige, in der Mitte ein Loch zeigende Körper wäre in das Rindengewebe hineingedrängt worden, erscheint unmöglich. Ältere Knollen zeigen wie die geschilderten noch deutlich die in der Querrichtung des Stammes gestreckte Gestalt. Sie waren meist nicht so gleichmäßig kugelig wie die von Krick beschriebenen Rindenknollen der Rotbuche. Die Holzfasern sind wie bei den Buchenknollen in Wirbeln angeordnet. Hier wie dort sind die Knollen von einem eigenen Kambium umgeben.

Raatz (1892) entwickelte folgende Kambiumtheorie: Die Tochterzellen der Initialen können sich mehrfach teilen. Im Kambium liegen danach also mehrere teilungsfähige Zellen hintereinander. Die flächige

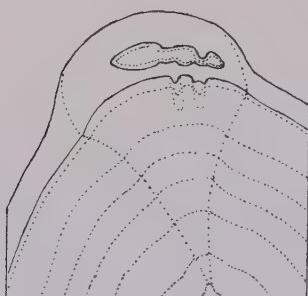


Abb. 32.  
Querschnitt  
durch einen Eichenkropf mit  
zweijähriger Rindenknolle.

Gestalt der oben beschriebenen Knollen, ihre anfängliche geringe Geschlossenheit (vgl. Abbildung 33), sowie die Tatsache, daß auch die jungen Stadien in keiner festen Verbindung mit dem Holz des Stammes stehen, gestatten bei Unterstellung der Raatzschen Theorie die folgende Vorstellung über den Werdegang der Knollen in der kropfkranken Eichenrinde. Eine größere Zahl von Kambiumderivaten, die hintereinander liegen, bleibt auf einem bestimmten Kambiumabschnitt zunächst teilungsfähig. Dann verliert der mittlere Teil der hintereinanderliegenden Zellen die Teilungsfähigkeit und verholzt. Der entstandene Körper ist rings von einem Kambium umgeben und steht auch mit den Nährstoffbahnen des Baumes in Verbindung.

Die Rindenknollen der Rotbuche haben „eine kugelige oder zur Richtung der Stammachse quergestreckte ellipsoidische Gestalt“ (Krick, Seite 8).

Krick fand, daß die Rindenknollen der Rotbuche in keiner verfolgbaren Verbindung mit dem Holz des Stammes stehen. Ob die von ihm beschriebenen Knollen etwas mit den hier behandelten gemein haben, vermag ich nicht zu beurteilen.

Herrmann (1904) beobachtete die Rindenknollen ebenfalls in den Eichenkröpfen und beschreibt sie als „kugelige Holzbildungen innerhalb der Rinde“. An Hand von Serienschnitten durch eine 5,6 mm lange und 2,3 mm dicke Knolle in radialer Längsrichtung erkannte er, daß dieselbe „mit dem Holzkörper des Astes durch einen abnorm breiten Markstrahl“ zusammenhing (S. 118, 119).

### 9. Die bisherigen Versuche, die Entstehungsursache der Eichenkropfkrankheit zu erklären.

Im Hinblick auf die Entstehungsursache beobachtete zuerst der Zoologe Henschel (1882) die Eichenkropfkrankheit, wenn von einer fraglichen Bemerkung bei Ratzeburg (1868) abgesehen wird. Henschel führte die Eichenkröpfe auf die „Eichenfinne“, „*Gongrophyes quercina* Hschl.“ zurück, mußte aber 1895 diese Ansicht fallen lassen und vermutete nun einen Pilz, ohne indessen Anzeichen für einen solchen angeben zu können. Herrmann (1903) lehnte die Ansicht Henschels über die vermeintliche Finne ab und schreibt, die von Henschel beobachteten Kapseln dieser Finne seien „weiter nichts als die in der Eichenrinde stets vorhandenen, in den Kropfrinden nur besonders zahlreich und üppig entwickelten Steinzellennester“ (S. 116). Auf Grund mikroskopischer Untersuchungen hat Herrmann den Verdacht der Pilzinfektion abgelehnt. Er fand an den jüngsten Trieben eine *Lachnus*-Art, konnte aber wegen versehentlicher Durchforstung seines Untersuchungsgebietes keine Versuche anstellen, um den Zusammenhang der Knollen mit Insektenstichen zu beweisen. Er betonte: Immer aber konnte in den Kröpfen bzw. auf den Kropfseiten der Zweige eine Veränderung der anatomischen Holzstruktur bis in den ersten Jahresring hinein wahrgenommen werden“ (S. 118). Laubert (1909), der von verschiedenen Lebewesen berichtet, die sich auf der Eichenrinde aufhielten, schreibt: „Wichtiger erscheint der Umstand, daß man auf der Rinde der jüngeren Zweige der erkrankten Eichen zuweilen Schildläuse (*Coccus, Lecanium* oder dergleichen) findet.“ Wenn man an die Zweigverdickungen und Gewebewucherungen denke, die „manche andere Läuse“ an Bäumen verursachten, so erscheine „der Verdacht zulässig, daß die Entstehung der Kropfbildungen der Eichen in letzter Instanz gleichfalls auf die Einwirkung von Schildläusen zurückzuführen ist. Auffällig wäre dann jedoch, daß die Kropfbildungen an einem Baum oft nur sehr zerstreut und vereinzelt vorhanden sind und daß die Größenzunahme der Wucherungen, also die Reizwirkung, nicht nur einen Sommer, sondern jahrelang andauert.“ Hierzu sei bemerkt, daß die von mir untersuchten einjährigen Zweige von Stieleiche mit daran haftenden Schildläusen stets nur verstärkte Tätigkeit des Phellogen aufwiesen, aber nicht in der Rinde grundsätzliche Veränderungen zeigten, während



Abb. 33.

Flächige Rindenknolle, die mit der Knolle am Stamm (rechts) kaum in Verbindung steht, in ihrer ursprünglichen Lage zum Kropf.

bei den Eichenkröpfen die Rinde innerhalb des Phellogen weitgehend abnorm ist, das Phellogen dagegen noch an etwa 2,5 cm dicken Kröpfen keine abweichende Tätigkeit zeigt.

Régaméy (1914) teilt, ohne eine genauere Beschreibung des Krankheitsbildes zu geben, mit: „Ayant rencontré sur un jeune Chêne du parc de Versailles des tumeurs proliférantes, bien différentes d'aspect des galles d'insectes, j'eus l'idée de les étudier au point de vue bactériologique. La surface de la plus grosse tumeur fut sterilisée par chauffage et des fragments de tissus furent ensemencés en bouillon peptoné-glycériné et cultivés à l'étuve“. Nach zwei Tagen sei bei 37° ein Bakterium gut gewachsen. Die Übertragungen dieser Kulturen auf Eiche hatten negativen Erfolg. Übertragungen auf Efeu und die Kapuzinerkresse sollen an diesen in weitaus den meisten Fällen Knollenbildung verursacht haben. Der Organismus wird „*Microspira carcinopaeus*“ genannt.



Abb. 34.

Aufsicht auf 6 dicht übereinander liegende Kröpfe an zehnjährigem entrindeten Eichenabschnitt. Zweimal sind je zwei Kropfstellen nicht deutlich zu unterscheiden  
(vergl. auch Abb. 35).



Abb. 35.

Radialschnitt durch die Knollen der Abb. 34. Zwei Kröpfe, deren Anfangsstellen kaum 3 mm Abstand haben, sind 4 Jahre deutlich getrennt gewachsen.

Küster (1916), der in Fig. 63 auf S. 103 fraglos die Photographie eines Eichenkropfes wiedergibt, führt im Literaturverzeichnis auf S. 96 den Aufsatz von Laubert an, schreibt aber ohne Bezugnahme auf irgendwelche Literatur: „Die in Fig. 63 dargestellte ungewöhnlich starke Wucherung eines Eichenzweiges, die möglicherweise auf Trauma zurückzuführen ist, besteht ganz vorzugsweise aus Rindengewebe; sie ist dadurch besonders auffallend, daß hier scheinbar eine bestimmte äußere Gestalt angestrebt wird. Die testudinariaartige Form kommt aber lediglich dadurch zustande, daß die zuerst gebildeten äußeren Schichten gesprengt werden“ (S. 104).

Bei Heß-Beck, Forstschutz, wird die Eichenkropfkrankheit in zwei Lichtbildern wiedergegeben. Die Kröpfe der Eiche sollen von *Nectria ditissima* erregt werden. Auf Seite 219 heißt es: „Geschlossene Krebse entstehen, wenn es dem Baum gelingt, die Krebswunden durch Neubildungen zu schließen und knollenartig zu überwallen. Dies ist bisweilen an Eichen der Fall, wobei übermäßige Rinden- (Kork-) Wucherungen den Verschluß herbeiführen.“ Die Krankheit wird als „schädlich“ bezeichnet.

Bei Beurteilung all dieser Ansichten muß besonders die Tatsache, daß nur die Derivate kranker Zellen krank sind, nicht aber die Krankheit auf das gesunde Kambium übergreift, berücksichtigt werden. Das zeigen auch sehr gut die Abb. 34 und 35.

#### 10. Versuche, deren Ergebnis noch abzuwarten ist.

Experimentell ist der Eichenkropfkrankheit in kurzer Zeit nicht beizukommen. Bei allen Übertragungen muß mit einem Zeitraum von drei bis vier Jahren gerechnet werden.

Da mikroskopisch nie ein Erreger nachgewiesen wurde, übertrug ich kropfkrankes Kambium auf Malzagar (Herbst 1934, Frühjahr 1935 und Juni 1935). Diese Versuche und Übertragungen auf Peptonagar und eine Mannitlösung (Juni 1935) blieben regelmäßig ohne Erfolg.

Folgende Versuche lassen noch kein Urteil zu. Von jungen, noch völlig geschlossenen Knollen wurde die Rinde bis auf das Kambium entfernt. Ist ein Erreger vorhanden, so ist anzunehmen, daß derselbe zumindest in die angerissenen und geschnittenen Zellen am Rande der so entstandenen Wunde einzudringen vermag. Würde ein Teil der angerissenen Zellen lebend bleiben, so müßte an dieser Stelle in einigen Jahren wieder ein Kropf auftreten, der die geschilderten Eigenarten des Holzes und der Rinde zeigt. Wird die Wunde überwallt und also ausgeheilt, so ist daraus nicht ohne weiteres auf das Fehlen eines solchen zu schließen. Man würde auf diese Weise Kröpfe reparieren können, was praktisch natürlich nicht in Betracht kommt.

In junge Zweige gesunder Pflanzen wurde unter die Rinde kropfkrankes Kambium übertragen.



Abb. 36.  
Oberhalb von Kröpfen  
an alten Eichen auf-  
tretende Rinnen, die  
eine Entwertung des  
Stammes erhöhen.

### II. Überblick über die wichtigsten Eigenarten der Eichenkropfkrankheit.

Die folgenden Zeilen sollen einen kurzen Überblick über die mir besonders beachtenswert erscheinenden Eigenarten der Eichenkropfkrankheit geben.

1. Die Eichenkröpfe lassen anatomische Unterschiede des Holzes bis in den ersten Jahresring erkennen.

2. Die Eichenkropfkrankheit tritt an Trieben bestimmter Jahre besonders stark auf, an Trieben vieler Jahre nur selten.

3. In undurchforsteten Eichenstreifensaaten ist gruppenweises Auftreten von Knolleneichen (vgl. Abb. 10 und 11) zu beobachten.



Abb. 37.

Stammabschnitte von Knollenkiefern.

Die fünf Stücke auf der linken Seite von einer Kiefer.  
Rechts drei Aststücke.

4. Aus Punkt 2 und 3 geht eine deutliche Abhängigkeit der Knollenbildung von Außenfaktoren hervor. Will man nicht eine innere Periodizität der Pflanze annehmen, so ist auf einen äußeren Anlaß zur Knollenbildung zu schließen. Welcher Art dieser äußere Anlaß ist, kann bisher nicht ermittelt werden. Alle diesbezüglichen Vermutungen, die in der Literatur ausgesprochen wurden, sind entweder sehr unbestimmt oder halten einer Kritik auf Grund des Krankheitsbildes nicht stand. Gegen das Vorhandensein eines im Kropfkambium lebenden Erregers spricht:

a) Die Krankheit bleibt auf die Derivate einer oder weniger anfänglich erkrankter Zellen beschränkt. Ein Erreger kann deshalb nur angenommen werden, wenn er im kropfkranken Kambium bei der Zellteilung von Zelle zu Zelle vererbt wird, wie es Milovidov für die Bildung des bakterioiden Gewebes von Lupinusknöllchen nachwies.

b) Es kommt vor, daß sich nach Absterben des kropfkranken Kambiums die Wunde durch Kallusbildung schließt.

c) Mikroskopisch und durch Übertragen kropfkranken Kambiums auf verschiedene Nährböden konnte kein Erreger nachgewiesen werden.

Beachtenswert ist aber auch die Tatsache, daß das kranke Rindengewebe keine sklerenchymatischen Elemente enthält, daß aber außen ein Mantel von Sklerenchymzellen vorhanden ist, wenn er auch — vermutlich infolge der starken Dehnung — weniger dicht ist. Die Zellen des Marks wurden von mir stets unverändert gefunden, so daß die Störung wahr-

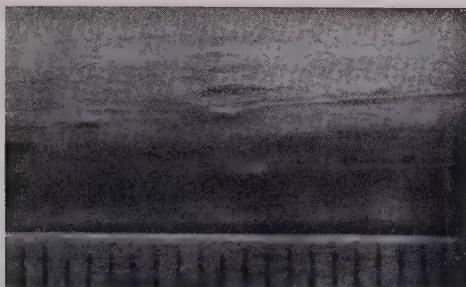


Abb. 38.

Aufsicht auf jüngste Knollenanlagen der Kiefer zwischen den Kurztriebendigungen derselben.

scheinlich erst nach Anlage des Kambiums und der äußersten Rindschichten eintritt.

5. Beobachtungen in undurchforsteten etwa 20 jährigen Streifensaaten von Stieleiche zeigten, daß Pflanzen, die mit ihrem Fußpunkt dicht an sehr kranken Pflanzen stehen, manchmal gar nicht, manchmal nur spurenhaft die Krankheit tragen. Tief über der Erde gezwieselte Kropfeichen zeigen an beiden Stämmen das gleiche Ausmaß der Krankheit.

6. Die Krankheit tritt an herrschenden und unterdrückten Eichen auf und findet sich auf den verschiedensten Eichenstandorten von der I. Ertragsklasse bis zu ganz schlechtwüchsigen Eichenbeständen. Die Bedeutung des Standortes kann noch nicht beurteilt werden.

7. Die Eichenkropfkrankheit kommt an ausgesprochener Stiel- und Traubeneiche vor.

8. In manchen Fällen schließt sich die kropfkranke Stelle, nachdem das kropfkranke Kambium abgestorben ist, durch Kallusbildung, in anderen erscheint die Überwallung unmöglich. Sobald das kropfkranke Kambium tot ist, entsteht infolge verminderter Zuwachs oberhalb des abgestorbenen Kropfes eine den Stamm lang hinauflaufende Rinne, welche nicht nur die

Kropfstelle, sondern auch den ganzen Stamm in seinem Werte beeinflußt (Abb. 36).

Die in der Jugend fast bedeutungslos erscheinende Kropfanlage beeinflußt die Verwendungsmöglichkeit mehr, als man annimmt.

### B. Die „Knollenkiefer“.

Dem Knollenkiefernproblem ist erst sehr spät nachgegangen worden. Sieht man von einigen wenigen Angaben in der Literatur ab, die aus älterer Zeit stammen, so sind erst 1930 zwei eingehendere Mitteilungen über diese Erscheinung ergangen: v. Tubeuf, Liese. Auch bei Knollenkiefer treten die Knollen oft dicht gehäuft auf. Hier soll die Knolle in ihrer Einzelentwicklung besonders behandelt werden.

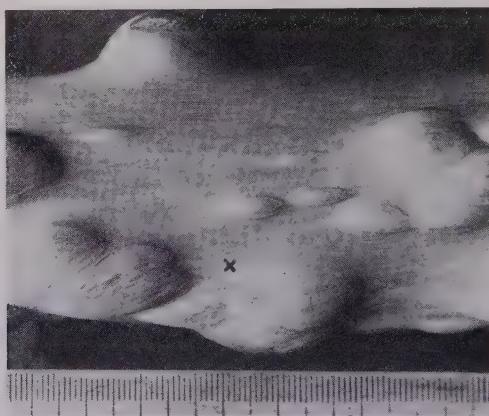


Abb. 39.  
Zwölfjähriges Kiefernstück,  
das Knollen verschiedensten Alters trägt.

#### 1. Das makroskopische Bild der Einzelknolle.

Die jüngsten schon am berindeten Zweig erkennbaren Knollen wurden mehrfach an dreijährigen Trieben gefunden. Da die Rinde der Kiefer schon in früher Jugend stark schilfert, bleiben jüngere Stadien dem Auge meist verborgen. Nach Entfernung der Rinde erkennt man die Krankheit viel leichter. In Abb. 38 sehen wir die jüngsten Stadien der Kropfkrankheit an einem vierjährigen Zweige. Es ist bezeichnend, daß die dicht benachbarten spindelförmigen Anfangsstellen der Knollenbildung regellos zwischen den noch erkennbaren Kurztriebendigungen liegen. Die jüngsten erkennbaren Stadien der Knollen findet man aber nicht nur an jungen Zweigen — die Eichenkropfkrankheit beginnt dagegen stets im einjährigen Sproß — der Kiefer, sondern auch an alten Stammstücken, wenn man deren Rinde abhebt. In der Abb. 39 liegt ein 12 jähriges Kiefernstück von 4,5 cm Stärke vor, das Knollen

verschiedenster Größe trägt. Bei dem Zeichen x findet sich eine einjährige Knolle, die bisher nur als spindelförmige Stelle unnormalen Faserverlaufs erkennbar ist. Der Querschnitt durch ältere Knollen überzeugt, „daß die Knollen ihren Ursprung an einer winzigen Stelle“ nehmen „und sich mathematisch genau wie ein Teil des normalen Holzes vergrößert haben . . .“ (v. Tubeuf, S. 236). Die Geschwindigkeit, mit der sich die Knollen hervorwölben, ist sehr verschieden. Damit wechselt natürlich auch ihre Gestalt. v. Tubeuf faßt das in die Worte: „Die Knollen sind aber nicht immer kugelig hervorgetreten, sondern oft auch in der Längsrichtung des Stammes gestreckt, einer Leiste ähnlich geworden . . .“ (S. 236). Die von v. Tubeuf gegebenen Abbildungen 8 (der rechte Sektor) und 11 (der linke Sektor) auf Seite 232 und 234 zeigen



Abb. 40.

Querschnitt durch Knolle einer Kiefer. Die Knolle ist achtjährig und beginnt im 5. Jahrring.



Abb. 41.

Wirbelbildung in der Knolle einer Kiefer, veranlaßt durch einen Ast.

Querschnitte, die ziemlich genau die winzige Anfangsstelle — in diesen Fällen am Mark — treffen. Sie lassen keinen Zweifel, daß die Krankheit auf die Derivate weniger anfangs erkrankter Kambiumzellen beschränkt bleibt. Andere Abbildungen v. Tubeuf's (insbes. Abb. 9) und die dazu gegebenen Erklärungen können leicht zu Irrtümern in dieser Hinsicht Anlaß geben. Sie sind dadurch bedingt, daß die Schnitte entweder zu hoch oder zu tief liegen. Man glaubt dann, die Krankheit beginne auf einem größeren Kambiumabschnitt und greife seitlich auf gesunde Kambiumteile über (vgl. hierzu auch die Bemerkungen v. Tubeufs zu der Abb. 11 auf S. 235). Um Fehlbeobachtungen zu entgehen, empfiehlt es sich, vor dem Querschneiden die Rinde zu entfernen, wodurch man ein genaueres Bild über die vermutliche Lage der Anfangsstelle erhält. Genau wie bei der Kropfeiche sehen wir auch hier, daß auf dem Querschnitt die Mark-

strahlen gleich der Grenze des knollenkranken Sektors verlaufen (vergleiche Abb. 40).

v. Tubeuf weist auf die lokale Schnellwüchsigkeit von Holz und Bast der Knollen hin, die bei Vorliegen einer Pilzerkrankung als selbstverständlich erscheine, und schreibt unter Verweis auf ähnlich schnelles Wachstum bei den Hexenbesen mancher Holzarten: „Und im übrigen beruht die sichtliche Hypertrophie der Kiefernknollen wohl nicht auf vermehrter Stoffablagerung in den Zellwänden oder in vermehrter Zellteilung als vielmehr in größerer Volumbeanspruchung infolge reicher Lückenbildung und großer Unregelmäßigkeit in Form und Richtung der Zellen“ (S. 354). Diese Behauptung ist sehr geeignet, die Vorstellung

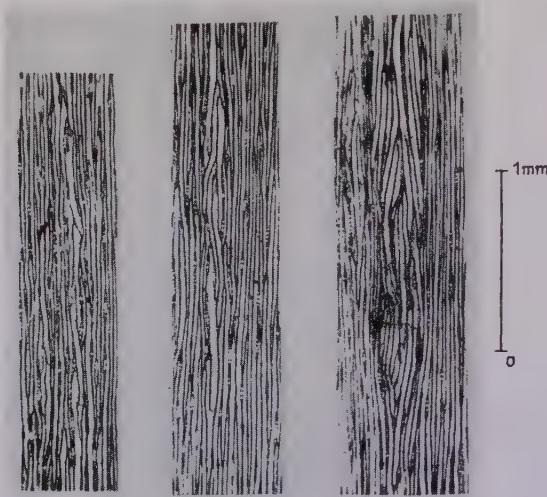


Abb. 42.

Abb. 43.

Abb. 44.

Serienschnitte in tangentialer Richtung  
durch die ersten Stadien der Knollenbildung bei Kiefer.

vom Wuchern parenchymatischer Gewebe in den Knollen zu vertiefen, zumal an dieser Stelle der „Eindruck von wuchernden Primärmarkstrahlen“ erneut angeführt wird.

Um über diese Verhältnisse wenigstens grob einen Anhalt zu gewinnen, berechnete ich das spezifische Gewicht von benachbartem gesunden und kranken Holz. Für die Feststellung etwa bestehender feiner Unterschiede ist der Umfang der vorgenommenen Messungen viel zu gering. Sie sollten auch nur zeigen, ob tatsächlich große Unterschiede bestehen. Es hatten in lufttrockenem Zustand insgesamt 247 ccm Kiefernknollenholz ein spez. Gewicht von:

0,534 bis 0,564; im Mittel 0,549,

insgesamt 258 ccm gesundes benachbartes Kiefernholz das spez. Gewicht: 0,462 bis 0,493; im Mittel 0,478.

Das gesunde Kiefernholz erwies sich also als leichter.

Zum Vergleich seien hier die Ergebnisse für die Knollenfichte vorweggenommen. Es hatten in lufttrockenem Zustand insgesamt 359 ccm Fichtenknollenholz ein spez. Gewicht von:

0,519 bis 0,567; im Mittel 0,548,

insgesamt 201 ccm gesundes benachbartes Fichtenholz das spez. Gewicht: 0,555 bis 0,580; im Mittel 0,564.

Das gesunde Fichtenholz erwies sich also wenig schwerer.

Sind diese Zahlen auch nicht allgemeine Durchschnittswerte, so läßt sich doch so viel sagen, daß das knollenkranke Holz in seinem spez. Gewicht keine großen Abweichungen von dem gesunden Holze aus der unmittelbaren Nachbarschaft am selben Stammstück aufweist.

Besonders auffallend ist die im Verhältnis zu den Eichenkröpfen gestreckte Gestalt der Kiefernknollen. Da die Krankheit, wie der Querschnitt durch die Knollen lehrt (vgl. Abb. 40), seitlich nicht auf das gesunde Kambium übergreift und vermutlich deshalb auch nicht in der Längsrichtung, ist auf ein Strecken des Knollenkambiums zu schließen. Dasselbe muß sogar sehr heftig sein, da ihm zufolge eine erhebliche Stauchung des Faserverlaufs eintritt, wie das die Abb. 41 zeigt. Es ist natürlich fraglich, ob die Vermehrung der Zellen in radialer und tangentialer Richtung im kranken Holz grundsätzlich in gleicher Weise erfolgt wie im gesunden Kambium. Immerhin ist dieses Strecken eine interessante Abweichung von der allgemeinen Vorstellung, daß das Kambium sich infolge gleitenden Wachstums nur unwesentlich verlängert. Eigenartig ist auch der Gegensatz, daß die Eichenkropfkrankheit kaum eine Kambiumverlängerung bewirkt, wenn auch in ihm zuweilen eine starke Stauchung des Zellverlaufs auftritt.

## 2. Mikroskopische Untersuchungen an den Knollen der Kiefer.

Die mikroskopische Untersuchung hatte vor allem das Ziel, die Entwicklung der Knollen in den ersten Stadien zu erkennen. Die Kenntnis dieser ersten Stadien ist deshalb besonders beachtenswert, weil diese sich viel leichter untersuchen lassen als die der Eichenkropfkrankheit und hier wie dort für die Beurteilung des Anlasses zur Knollenbildung von großer Wichtigkeit sind.

Der Untersuchung dienten eine ein- und eine zweijährige Knolle an einem elfjährigen, 5 cm dicken Stammstück. Hiervon wurden tangentiale Serienschnitte hergestellt, bis schließlich die Stelle unnormalen Faserverlaufs auch mikroskopisch nicht mehr aufzufinden war. Verfolgt man die Serienschnitte von der Außenseite des Stammes anfangend, so sieht

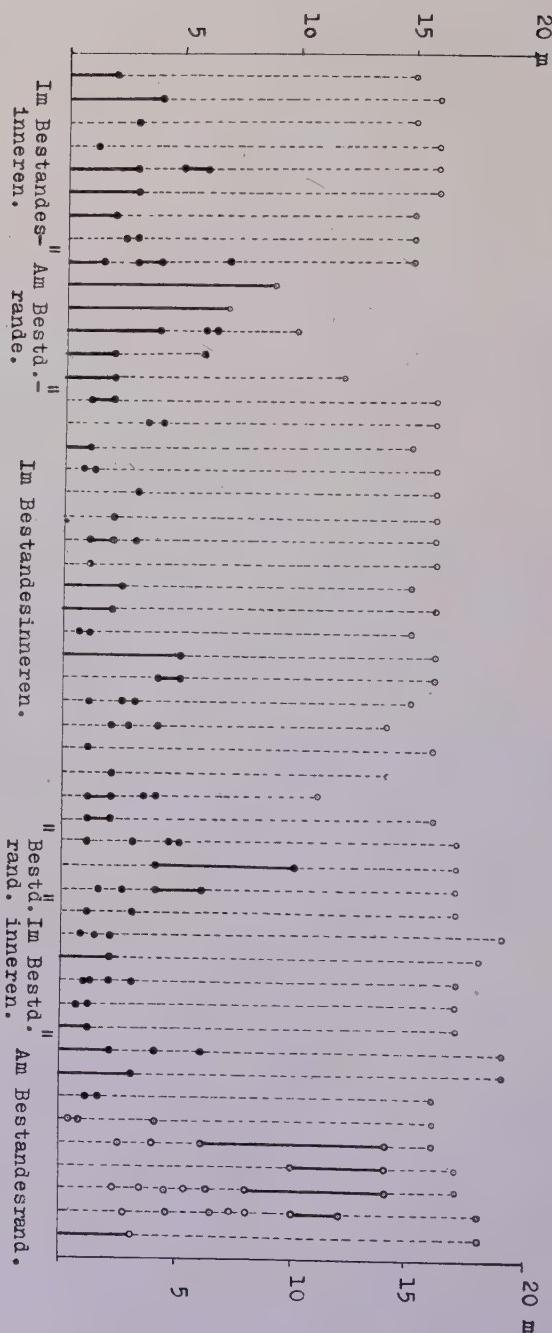


Abb. 45.

Höhen der Knotholen am Stamm in Jagen 49 e des Forstamtes Rowa (Mecklenburg-Strelitz).  
Vergl. Text.

man, daß die Krankheitsstelle ganz allmählich immer kleiner wird, bis schließlich nur noch einige Zellen abweichende Lagerung erkennen lassen. Irgendeine Störung grober Art, wie eine Wunde oder der Rest eines Zweigstummels, ist nicht zu finden. Aus einer langen Reihe von Serienschnitten wurden die in den Abb. 42 bis 44 wiedergegebenen ausgesucht. Die Abbildung 42 stellt den letzten Schnitt dar, auf dem man die Krankheitsstelle gerade noch erkennen kann. Es ist aber nur möglich, wenn man die Stelle von den vorhergehenden Schnitten kennt. Man sieht wenige aufeinanderfolgende Tracheiden, die durch abweichende Dicke bei geringerer Länge auffallen. Im Holz sind teilweise noch kürzere Tracheiden, die aber ein geringes Lumen haben, enthalten. An weiter nach dem Stamminnenen gelegenen Schnitten erkennt man nichts Abweichendes mehr. Abb. 43 zeigt einen Schnitt, der vier Schnittdicken weiter nach außen liegt. Es fällt nur ein etwas welliger Verlauf der kranken Fasern auf neben den schon genannten Eigenschaften. Der Schnitt der Abb. 44 liegt abermals zehn Schnittdicken weiter nach außen und zeigt eine spindelförmige Anordnung der Zellen, die völlig der für die Anfangsstadien der Eichenkropfkrankheit beschriebenen Zellagerung gleicht.

Um für die mikroskopische Untersuchung radiale Längsschnitte zu erhalten, fertigte ich von einer drei- und einer fünfjährigen Knolle vom zehnjährigen, 5 cm starken Stammstück Serienschnitte, von denen jeweils einer die winzige Anfangsstelle der Knolle und die Achse des Stammes treffen mußte. Auch auf diesen Radialschnitten zeigte sich, daß die Knollenbildung an einer winzigen Stelle beginnt, an welcher die Krankheit dem Auge auch bei mikroskopischer Betrachtung nur durch den gestauchten Faserverlauf bemerkbar wird. Eine weiter im Stamm liegende Störung irgendwelcher Art, die der Anlaß zur Knollenbildung hätte sein können, wurde ebenso wie bei den Tangentialschnitten nicht gefunden.

Auch der Querschnitt durch den Stamm an der Anfangsstelle der Knolle läßt keine Verletzung erkennen. Von einer feinen Stelle an beginnt eine Störung der im gesunden Koniferenholz typischen radialen Reihen. Sie verlaufen — vermutlich infolge des Drucks in der Längsrichtung des Stammes — unregelmäßiger und etwas gewellt. Im Bereich der Knollen springen an der Grenze vom Holz zum Bast die Tracheidenreihen verschieden weit vor, so daß die Grenze zackig und rauh verläuft (vgl. v. Tubeuf, S. 238). Die Weite der Zellen ist im kranken Holz ungleichmäßiger als im gesunden, doch im Durchschnitt wohl nicht verschieden.

Auf Seite 355 gibt v. Tubeuf „Querschnitte durch ‚Pseudomarkstrahlen‘ der Knollenkiefer, also Tangentialschnitte im Stammholz“ in zwei Lichtbildern wieder und schreibt dazu: „Besonders auffallend sind die gekammerten Tracheiden mit ihren Querwänden. Die primäre Lamelle dieser Querwände ist verholzt, die dicke sekundäre Lamelle reagiert schwach als Zellulose (Chlorzinkjod und Gegenprobe mit Phloroglucin und Salzsäure)“

(S. 356). Solche Querwände konnte ich nur in den gestreckten Zellen der Rinde von Kiefer und Fichte finden. Sie treten im gesunden und kranken Teil auf. Eigenartig ist dabei, daß die Lage der Zellen bei dieser Kammerung nicht verändert wird. Die gekammerten Zellen der Wirbel und der gestauchten Zellzüge unterscheiden sich in ihrer Lage zueinander nicht von denen des Holzes.



Abb. 46.

Im oberen Teil der Krone stark knollige Kiefer,  
deren unterer Stammteil frei von Knollen ist.

Forstamt Rowa, Jagen 41 a.

### 3. Die Verbreitung der Knollenkiefern im Bestand und die Verteilung der Knollen am Stamm.

Im folgenden will ich meine Beobachtungen über die Knollenkiefer in der Revierförsterei Zachow (Forstamt Rowa, Meckl.-Strel.), welche auch Herr Professor Dr. Liese besuchte, und in der Umgebung von Lauenburg in Pommern darstellen. Es sind das zwei Gebiete, in denen die Knollenkiefer außergewöhnlich oft auftritt. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war:

1. die Verbreitung der kranken Kiefern in Beständen, die sehr viele Knollenkiefern aufweisen, zu beobachten;

2. die Höhe, in der die Knollen in den einzelnen Beständen am Stamm auftreten, zu ermitteln;
3. die Standortsverhältnisse und die des Bestandes zu erfassen.

Führen solche Untersuchungen auch nicht gleich zu einer Erklärung der behandelten Naturerscheinung, so können sie doch vor irrtümlichen Vorstellungen bewahren.

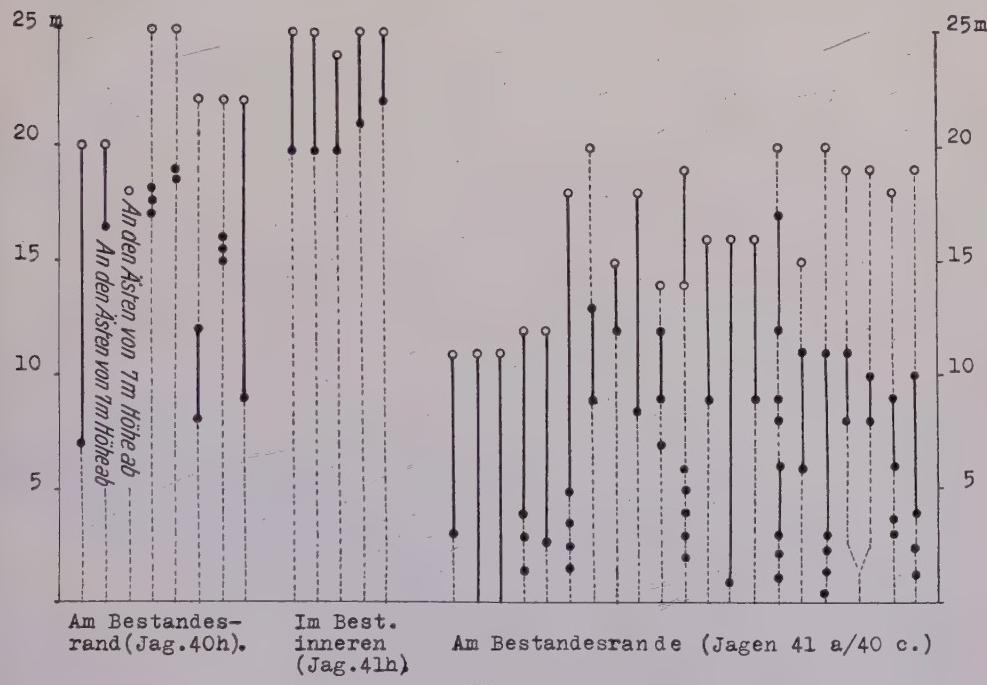


Abb. 47.

Verteilung der Knollen an Kiefern der Jagen 40 und 41 (Forstamt Rowa). Drei Gruppen.

### a) Die Beobachtungen im Forstamt Rowa.

Jagen 49 e. Das Gelände ist nahezu eben mit einer Höhendifferenz von 10 m. Der Boden ist Sand, der unter Fichte die Abfalldecke, unter Kiefer eine lockere Moosdecke aufweist. Das Jagen ist größtenteils von Bruchgelände begrenzt und durchzogen. Der Bestand ist ein 45 jähriges Kiefernstanzenholz, das mit Ausnahme des höher gelegenen Teiles (anstoßend an Jagen 59 g) mit Fichte unterstellt ist. Die Kiefer ist „ziemlich schlankwüchsig, vielfach krebsig“. Der Schluß ist gedrängt (Grundflächenschluß: 1,1). Die durchschnittliche Höhe ist 16 m (Ekl. III). Der Bestand ist künstlich begründet.

Das Jagen wurde von Knollenkiefer zu Knollenkiefer gehend — ganz wie der Zufall wollte — durchschritten. Dabei wurden die Höhen der Kiefern und die Höhen der an ihnen befindlichen Knollen in das in Abb. 45

wiedergegebene Schema eingetragen. Die betrachteten Kiefern wurden mit Kreide gekennzeichnet. In der Abb. 45 bedeuten die senkrechten Linien je eine Kiefer. Die gestrichelten Teile sind gesund, die ausgezogenen mehr oder weniger dicht mit Knollen besetzt, die Kreise bedeuten Stellen mit einer oder wenigen Knollen. Es zeigt sich in Jagen 49 e:

1. Die Knollen finden sich im großen ganzen nur im unteren Drittel der Stammhöhe. Nur am Bestandesrande treten auch bis zur vollen Stammhöhe stark knollige Kiefern auf.
2. Die Knollenkiefern sind am Bestandesrande am Bruch besonders häufig.
3. An den zahlreich eingesprengten Fichten wurden Knollen nicht beobachtet.

Ein ähnliches Bild gibt ein 35 jähriges Kiefernstangenholz in Jagen 42.

Jagen 41a/40c. Das Gelände ist ziemlich eben, leicht gewellt. Bruchige Gründe mit Birke und Erle sind überall benachbart. Der Boden ist ein „trockener Sand mit feuchten Einsenkungen“, überzogen mit einer Moos- und teilweise dichten Grasdecke, an manchen Stellen mit Beerkrat und Adlerfarn. Der Bestand ist ein schwaches 67 jähriges Kiefernbaumholz (Ekl. IV) mit vielen krummen, grobästigen, zwieseligen Stammformen. Die Höhe fällt am Bestandesrande stark ab und beträgt im Mittel etwa 15 m. Die Bestockung ist sehr wechselnd, z.T. gedrängt, im großen ganzen lückig. Die in der Abb. 47 wiedergegebenen Kiefern stehen mehr oder weniger am Bestandes- und Bruchrande.

In diesem Jagen gilt:

1. Die Knollen finden sich am dichtesten im oberen Kronenteil (Abb. 46), aber auch zerstreut am übrigen Stammteil.
2. Die Knollenbildung ist am Bruchrande besonders ausgeprägt. Die Kiefern im dichten Bestand tragen viel weniger Knollen und sind auch zu einem geringeren Teil erkrankt.

Jagen 47a. Das Gelände ist in seinen oberen Lagen ungefähr eben und fällt nach NW sanft bis lehn bis an ein z. Zt. entwässertes Wiesental ab. Der Boden ist ein frischer lockerer Sand, der stark mit Hypnum-Arten, Oxalis, *Aira fl.*, *Luzula ang.* und Beerkrat begrünt ist. Der Bestand ist ein 95 jähriges Kiefernbaumholz III. Ekl. von 21 m Höhe bei einem Grundflächenschlußgrad von 0,9. Er ist „bis auf einige blößige und lückige Stellen gut geschlossen“.

Befund:

1. Die Knollen erscheinen meist in Höhen von 11 bis 21 m.
2. Die Knollenkiefern stehen auch in weiter Entfernung vom vermutlich früheren Bruch.
3. Die kranken Kiefern stehen in mehr oder weniger gut erkennbaren Gruppen.

Jagen 40 h/41 h. Das Gelände ist eben. Der Boden ist ein frischer Sand, dicht mit *Aira flex.*, Moosen, z. T. Adlerfarn und Wacholder überzogen. Der Bestand ist ein 100 jähriges Kiefernbaumholz, das in dem hier in Betracht kommenden Teil etwa 24 m hoch ist.

Abb. 47 gibt die Verteilung der Knollen für dieses Jagen in der entsprechenden Weise wie Abb. 45 wieder.

Die Knollen treten bei der Gruppe am Bestandesrande an einem größeren Teil des Stammes auf als bei der Gruppe, die im Bestandesinnern (etwa 75 m vom Bruch entfernt) steht und die Knollen nur in der Krone aufweist.

b) Die Beobachtungen im Forstamt Lauenburg (Landesbauernschaft Pommern).

Försterei Sorkow: Jagen 7 b. Auf einer sanft abfallenden Fläche von etwa 0,4 ha stehen etwa 15 Knollenkiefern am Rande eines feuchten Erlengrundes. Der etwa 60 jährige Kiefernbestand ist mit Fichte unterstellt. Seine Begründung ist unbekannt.

Jagen 2a. Am Rande eines Niederungsmoors steht eine ungefähr 120 jährige Knollenkiefer, deren unterer Teil knollenfrei ist, während die Krone sehr viele Knollen trägt. Im Moor (etwa 75 m entfernt) steht eine 60 jährige Knollenkiefer, in deren Umgebung auf etwa 3 a bis vor kurzer Zeit vier weitere Knollenkiefern standen, die für wissenschaftliche Zwecke gehauen wurden.

Försterei Gr. Runow: Jagen 15/19. Die gesamte Fläche von etwa 2 ha Größe, auf der Knollenkiefern stehen, setzt sich aus zwei Teilen zusammen, einem ebenen bis sanft nach Norden abfallenden Gelände (Boden: Lehmiger Sand, Bestand: 0,3 bis 0,5 Kiefer; 0,7 bis 0,5 Buche. Die etwa 80 jährigen Kiefern sind vermutlich aus Naturbesamung hervorgegangen) und einem Hochmoor, das im zu besprechenden Teil fast nur Kiefern in räumigem Schluß trägt. Im erstgenannten Teil stehen etwa 20 Knollenkiefern, auf dem Hochmoor nur eine etwa 100 jährige und eine etwa 50 jährige Knollenkiefer.

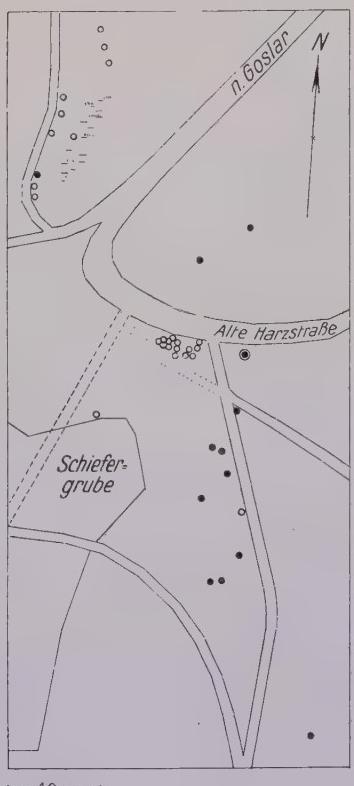


Abb. 48.

Försterei Gr. Runow, Jagen 15.  
Stark knollige und gesunde Kiefer  
dicht benachbart.

Jagen 29. Auf einem sumpfigen Gelände im Tal stehen in einem Mischbestand von Kiefer, Fichte, Aspe, Birke und Erle sechs etwa 70 jährige Knollenkiefern, die im oberen Drittel des Stammes knollenkrank sind. Eine etwa 100jährige Knollenkiefer ist am ganzen Stamm stark erkrankt.

Jagen 31. Unter ähnlichen Bedingungen wie im vorigen Beispiel treten zwölf etwa 60jährige Knollenkiefern auf (aus Zeitmangel nicht näher untersucht).



Jagen 41b. An einem NW- und N-Hang und am Ufer des Gr. Runower Sees stehen sehr viele Knollenkiefern aller Altersstufen von 20 bis 90 Jahren. Sie finden sich hier auf Sumpf im Kiefern-Birken-Erlen-Bruch und am trockenen Berghang. Da ich versäumt hatte, nach dem für die Knollenkiefern im Forstamt Rowa entworfenen Schema dieses Vorkommen zu bearbeiten, bat ich Herrn Förster Hermann (Fürsterei Darssow), auf dieselbe Weise die Knollenkiefern zu beschreiben. Aus der mir zugesandten Übersicht, die ohne Kenntnis meiner Beobachtungen im Forstamt Rowa entstand,

Abb. 49.

Verteilung kropfkranken Fichtenanflugs  
in der Umgebung einer sehr alten Kropffichte.  
(Stadtforstamt Goslar, Distrikt 154, 171, 172.)

- Alte Kropffichte.
- Mit der Umgebung gleichaltrige Kropffichten.
- Kropffichten, jünger als der umgebende Bestand.

geht sehr schön hervor, daß die Randkiefern die Krankheit stärker und an einem größeren Stammteil zeigen<sup>1)</sup>.

Ergänzende Angaben zu den Beobachtungen im Forstamt Lauenburg (Landesbauernschaft Pommern).

Während sich im Forstamt Rowa (Meckl.-Strel.) die Knollenkiefern größtenteils in künstlich begründeten Beständen finden, sind die Knollenkiefern der Umgebung von Lauenburg sehr wahrscheinlich aus natürlichem Anflug entstanden. Dennoch habe ich nicht eine Stelle gefunden, die so gut einen alten Samenbaum und in dessen Umgebung den kranken Anflug zeigt wie die Kropffichten im Forstamt Goslar (vgl. Abb. 49).

<sup>1)</sup> Ich bin Herrn Förster Hermann zu bestem Dank für seine Bemühungen verpflichtet.

c) Zusammenfassende Übersicht über die Verbreitung der Knollenkiefern im Bestand und die Verteilung der Knollen am Stamm.

1. In jedem der untersuchten Bestände treten Knollenkiefern sehr verschiedenen Erkrankungsgrades auf. Es zeigt sich aber, daß die Knollen im großen ganzen in einer bestimmten Höhe, die für jeden einzelnen Bestand wechselt, besonders häufig sind. An tief über der Erde gewieselten Kiefern wurde gleiches Verhalten jedes Zwiesels gefunden.

2. Die Knollenkiefern des Bestandesrandes tragen viel mehr Knollen und dieselben auch an einem wesentlich größeren Abschnitt des ganzen Stammes als die Knollenkiefern des Bestandesinneren. In der Revierförsterei Zachow des Forstamtes Rowa bedeutet der Bestandesrand auch meist die Nähe des Bruchs. In der Försterei Gr. Runow bei Lauenburg in Pommern (Jagen 15) stehen die Knollenkiefern aber in offenbarem Widerspruch zu dem Gesagten in einem normalen Buchen-Kiefern-Mischbestand, während die Kiefern des benachbarten Hochmoors, Jagen 19, bis auf zwei gesund sind. Die Bestandesränder geben den Knollenkiefern augenscheinlich günstigere Bedingungen zur Knollenbildung als das Bestandesinnere. Die Nähe von Brüchen ist in den untersuchten Gebieten zwar auffallend, kann aber durch Zufall bedingt sein.

3. Boden und Wasserführung scheinen nicht ausschlaggebend zu sein, da die Knollenbildung auf den verschiedensten Böden vorkommt.

4. Die Knollenkiefern stehen oft in Gruppen, treten aber auch einzeln auf.

5. Eine bestimmte Stelle oder Stammseite des Baumes, an der die Knollenbildung besonders ausgeprägt sei, wurde nicht beobachtet. Die Angabe L. Kleins, daß die Knollenbildung am Stamm häufiger sei, erscheint nicht begründet.

**4. Die bisherigen Versuche, das Problem der Knollenkiefer zu erklären**

Als absolut sicher ist bisher von keinem Verfasser eine Theorie, die den Anlaß zur Knollenbildung der Kiefer erklärt, gegeben worden.

L. Klein führt 1926 die Knollenkiefer als „*Pinus silvestris* L. *gibberosa* Kihlmann“ auf, hält es aber für „zweifelhaft, ob Lusus oder pathologische Erscheinung“ vorliegt. Die Bildung habe viel Ähnlichkeit mit *Picea excelsa* L. *verrucosa* L. Klein. Nach der von L. Klein gegebenen Erläuterung sind die von ihm genannte *Picea excelsa* L. *strumosa* L. Klein und die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Kropffichte identisch. Die Knollenkiefer und die Kropffichte gleichen sich aber auch sowohl im Habitus wie in der Anatomie der Knollen weitgehend.

Liese, J., der das Forstamt Rowa besuchte, glaubte an eine parasitäre Krankheit. Eine Mutation könne nicht vorliegen, weil nach Angabe des Herrn Forstmeister Kaysing die Bestände mit Knollenkiefern aus

Samen verschiedener Herkunft aufgewachsen seien (S. 151). Pilze konnte er als Erreger nicht feststellen. Die Bedeutung z. T. beobachteter Bakterien sei ungeklärt.

v. Tubeuf erörterte eine Anzahl von Umständen, die die Knollenbildung veranlassen könnten. Seine eigentliche Ansicht ist aber wohl, daß hier eine Mutation vorliege, so daß bei natürlicher Verjüngung oder Samengewinnung aus erkrankten Bestandesteilen eine Ausbreitung der Knollenkiefer möglich sei. Er betont jedoch auch den Einwand, den Liese

gegen diese Annahme geltend macht. Als äußere Anlässe kämen ferner in Betracht Rynchotenstiche und Frost. „Das gehäufte Auftreten der Knollen im frostigen Sumpfrande gibt einem solchen Gedankengange Raum“ (Seite 241). Ferner nennt v. Tubeuf die an den Zweigen der Knollenkiefer oft sprunghafte Rotholzbildung, die mit der Knollenbildung vielleicht irgendwie zusammenhänge, glaubt aber eine solche Vermutung ablehnen zu können, weil Rotholzbildung an gesunden Kiefern in gleicher Weise vorkomme (S. 241, 354). Bei Fichte konnte ich die Knollenbildung im Rotholz und im normalen Holz finden.

Schließlich erörtert v. Tubeuf die Bedeutung von „Scheinmarkstrahlen“ und damit zum Teil in Zusammenhang diejenige der „Spuren“ von Kurztrieben. Er schreibt: „Es ist auffallend, daß bei allen Sproßhypertrophien der Nadelhölzer eine bedeutende Verdickung der Markstrahlen eintritt“ (S. 239). Auch die Knollen

der Kiefer, die nach ihm den Eindruck machen, als ob sie von parasitären Pilzen befallen wären, obwohl



Abb. 50.

Strasburger, Gefäßbündelzylinder des Kurztriebes der Kiefer im Holze des mehrjährigen Tragsprosses.

Tangentialer Schnitt

durch den Tragsproß.

Aus v. Tubeuf, S. 478.

man keine Parasiten in ihnen findet“ (S. 240), sollen „deutlich“ erkennbare Markstrahlen aufweisen. In einem Nachtrag werden diese Gebilde als „Scheinmarkstrahlen“, die den Scheinmarkstrahlen von Hasel, Erle, Hainbuche im Aufbau entsprächen, und schließlich als helle Radialbänder, die „aus einem komplizierten Maserholze von Tracheiden und zahlreichen kleinen Markstrahlen bestehen“ und „die wohl unter Spannungsverhältnissen in dem Maserholze der Knollen entstanden sind“, bezeichnet (S. 353).

bis 356). Auch die Spuren der Kurztriebe sollen „eine Art von Scheinmarkstrahlen bilden“ (S. 356). v. Tubeuf versuchte, „die Narben (Stummel) der abgeworfenen, nadeltragenden Kurztriebe mit der Knollenkiefer in Beziehung zu bringen“ (S. 241). Er fand die Reste dieser Stummel („sehr feine Spiraltracheiden, die den Tracheiden des Holzes aufsitzen“, S. 241) als Einschüsse im Holz und meinte, sie könnten Störungen im Holzbau veranlassen („besonders für die Verschiebung der radialen Ordnung im Kiefernholze und Baste“, S. 356). Es bestehe die Möglichkeit, daß die „als Scheinmarkstrahl erscheinende Spur als Erreger der Knollenmaserbildung an den Kiefernsporen in Betracht kommen könne“ (S. 465). v. Tubeuf schreibt: „Tatsächlich veranlassen die Kurztriebe mit ihrem, schon in der Markkrone beginnenden Ansatz einen unregelmäßigen Verlauf der Längstracheiden des Tragastes, welche einerseits dieser Kurztriebspur seitlich ausweichen müssen, andererseits selbst (im Stammquerschnitt besehen) aus ihrer streng radialen Richtung gebracht werden, um im Bogen zum Kambium auszubiegen, und drittens müssen die unterbrochenen an ihrem Außenende überwältigt werden. Dazu kommt noch die Umstellung des Zuwachsese, wenn die Kurztriebe aus der Rolle schlafender Augen zu aktiven Seitenästen umgewandelt werden und sich am Dickenwachstum beteiligen. Diese Abweichungen, besonders die Störung der radialen Ordnung, sind den Anfangsstadien der Knollenbildung nicht unähnlich“ (S. 465). Als Vergleich zieht v. Tubeuf die in Abb. 50 wiedergegebene Zeichnung eines Querschnitts durch einen Kurztrieb aus Strasburger (Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen, 1891, Tafel II, Abb. 40) und einige andere Abbildungen heran, die Schnitte durch die Kurztriebspuren darstellen. Gegen diese Darstellung spricht:

1. Die Anfangsstellen der Kropfkrankheit an vierjährigen Kiefernabschnitten liegen regellos zwischen den Endigungen der Kurztriebe, die bereits überwältigt, aber noch deutlich am entrindeten Holz zu sehen sind. Vgl. Abb. 38.

2. Die Knollen bilden sich auch noch an sehr alten Stammstücken der Kiefer, bei denen die Kurztriebspuren längst überwachsen sind.

3. Die Knollenbildung beginnt an einer winzigen Stelle, an welcher wenige aufeinanderfolgende Tracheiden durch geringfügige Abweichungen in der Gestalt erkennbar sind. Auf Tangentialschnitten durch den Stamm findet man diese Stelle nur, wenn man dieselbe von den weiter außen liegenden her kennt. Vgl. Abb. 42 bis 44.

##### 5. Überblick über die wichtigsten Eigenarten der Knollenkiefer.

1. Die Kiefernknollen entstehen auch an starken Stämmen und gehen nicht nur vom ersten Jahresring wie die Eichenkröpfe aus. Sie können aber auch am Mark beginnen.

2. Die ersten erkennbaren Stadien weisen nur wenige in ihrer Gestalt abweichende Zellen auf.
3. Die Krankheit greift nicht auf gesundes Kambium über.
4. Die Knollenbildung tritt oft an Gruppen benachbart stehender Kiefern auf. Oft findet man aber auch einzeln stehende Knollenkiefern zwischen gesunden Stämmen und gesunde Kiefern in unmittelbarer Nachbarschaft stark erkrankter (Abb. 48).
5. Die Knollenbildung ist in einer bestimmten Höhe, die für verschiedene Bestände wechselt, besonders häufig. Am Bestandesrande sind die Knollen mehr am ganzen Stamm verteilt und dichter benachbart.

### C. Die „Kropffichte“.

Während die Eichenkropfkrankheit wenigstens hin und wieder einen Autor beschäftigt hat, fehlen über die Kropffichten meines Wissens jegliche genauere Angaben außer einer kurzen Bemerkung bei L. Klein. Auch C. Schröter (1898) führt sie nicht an.

Die Kropffichte ist offenbar noch seltener zu finden als die Knollenkiefer und hat wirtschaftlich vermutlich gar keine Bedeutung.



Abb. 51.  
Knollen an Zweigen  
der Kropffichte.

sammelt. Ähnlich wie bei der Kiefer wachsen die ersten Stadien oft nur sehr langsam zu oder bleiben sogar im Wachstum hinter dem gesunden Holze zurück. Erst an älteren Stämmen wölbt sich der Holzkörper der Knollen stark hervor; das Rindenwachstum ist im Alter normal, in der Jugend zuweilen stärker als am gesunden Stamm. Während das Kambium der Eichenkröpfe im Alter abstirbt, bleibt das der Fichten- und Kiefernknollen voll lebensfähig. Um festzustellen, ob auch bei der Kropffichte nur die Tochterinitialen kranken Kambiums die Krank-

### 1. Die Gestalt der Fichtenkröpfe.

Die Fichtenkropfkrankheit wird an etwa fünfjährigen, 8 mm dicken Zweigen äußerlich erkennbar durch eine schwache Beule, die man nur bei genauem Suchen findet (Abb. 51). Der Querschnitt zeigt einen Sektor, der oft mit seiner Spitze im ersten Jahresring ansetzt. Stücke, die einen Beginn in späteren Jahresringen zeigen, wurden zwar wiederholt gefunden, aber nicht in so schönen Exemplaren wie bei der Knollenkiefer. Das untersuchte Material war meist von sehr langsam gewachsenen Fichten, die stets unter Druck gestanden und geringe Stärken hatten,

heit weitertragen, wird entsprechend wie bei der Knollenkiefer die Rinde entfernt und ein Querschnitt durch die winzige Anfangsstelle gelegt. Wir sehen auch hier, daß ein seitliches Übergreifen nicht statthat (Abb. 52.)

In den Kröpfen der Fichte findet in gleicher Weise eine Streckung des kranken Kambiums statt wie bei der Knollenkiefer. Dieses Strecken ist auch bei Kröpfen, die sich gar nicht aus dem Holz des gesunden Stammes hervorwölben, sehr stark und veranlaßt Zellstauchung und Wirbelbildung. Auffallend ist auch die helle Farbe des Kropfholzes. Auch die Kröpfe in Rotholz setzen mit der Rotfärbung aus und sind weiß bis gelblich. Das

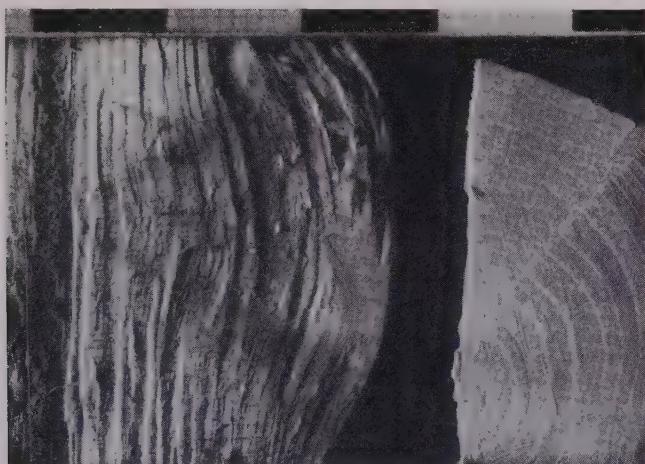


Abb. 52.  
Längs- und Querschnitt durch denselben Fichtenkropf.

Holz macht aber keinen lockeren Eindruck und hat auch etwa das gleiche spezifische Gewicht wie gesundes Holz (Vgl. S. 617). Verbreiterte Markstrahlen können auch im Holz der Fichtenkröpfe nicht festgestellt werden. Vergleicht man vielmehr die Markstrahlgrößen in gesundem und in krankem Holze, so erkennt man die erhebliche Zergliederung der Markstrahlen im Wimmerholz der Fichtenkröpfe an dem hohen Anteil wenigzelliger Markstrahlen.

## 2. Die Verbreitung der Kropffichten im Bestand.

L. Klein gibt nur wenig über die Kropffichten an. Er bezeichnet sie als eine „Spielart zweifelhafter Natur“ und schreibt unter Wiedergabe einer Abbildung: „... *Lusus* (oder *forma*) *strumosa* L. Klein, die Kropffichten mit oft gewaltigen, nicht aufreibenden, bald einzeln stehenden, bald mehr oder weniger gehäuften, mitunter um den ganzen Stamm herumgehenden, durch lokal gesteigertes Wachstum gebildeten Holzwucherungen des Stammes. Im höheren Gebirge, namentlich auf

frischem bis feuchtem Boden nicht gerade selten und stellenweise gesellig auftretend“.

In der Umgebung von Goslar wurden Kropffichten an drei Stellen gefunden. In einer etwa 30 jährigen Fichtenpflanzung (reine Fichte) stehen mehrere Kropffichten über die Fläche verstreut. (Kl. Fa. Goslar, Distr. 76). Bezeichnend ist, daß sich die Krankheit an denselben Individuen in der Regel mehrfach wiederholt und an benachbarten Pflanzen fehlt. Ein viel anschaulicheres Bild gewinnt man an zwei Stellen im Stadtforstamt Goslar, wo sich Kropffichten offenbar natürlich verjüngt haben.



Abb. 53.

Alte Kropffichte im Stadtforstamt Goslar (Distr. 99).

gleichaltrigen Beständen wenig begründet wäre. deutlich hervor. Da die Bodenverhältnisse innerhalb der Anflugzone wechseln vom Sumpf bis zum Boden mit normaler Wasserführung, muß angenommen werden, daß die Kropfbildung der Fichte — mag die Frage eines auslösenden Anlasses zunächst unberücksichtigt bleiben — weitgehend in der Pflanze selbst begründet ist, daß die Neigung dazu eine erbliche Eigenschaft ist, die anderen gesunden Pflanzen, die oft in unmittelbarer Nachbarschaft stehen, fehlt<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Nach Abschluß der vorliegenden Arbeit sah ich die Kropffichte an vielen Stellen in der Umgebung von Friedrichroda (Thüringerwald) gesellig und in Einzel'exemplaren. In allen Fällen wurden die Kröpfe nur in geringen Höhen (bis etwa 6 m) über der Erde gefunden, während die Knollen der Kiefer oft in großen Baumhöhen beobachtet werden konnten.

#### D. Schlußbetrachtung.

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Krankheitsbilder beschrieben, die bei drei Pflanzen auftreten und in anatomischer Hinsicht insbesondere gemeinsam haben:

1. Die Derivate einer oder weniger anfänglich erkrankter Kambiumzellen vermehren sich zu einem Komplex kranker Kambiumzellen und erzeugen einen Kropf. Das benachbarte gesunde Kambium wird nicht angesteckt.

2. Das kranke Kambium bleibt lange lebensfähig. Bei der Eiche stirbt es in der Regel nach einigen Jahren ab, bei Kiefer und Fichte in seltenen Fällen im späten Alter. Aber auch bei der Eiche kommt es vor, daß das kropfkranke Kambium noch am 41 jährigen und 17 cm starken Stamm (unterhalb des Kropfes gemessen) lebt.

3. Das Kambium hat die Tendenz, sich zu strecken. Infolgedessen werden die Zellzüge stark gestaucht.

Ein Unterschied zwischen den Krankheitsbildern besteht darin, daß die Eichenkropfkrankheit am einjährigen Sproß ihren Ausgang nimmt und die Knollen der Kiefer und Fichte auch in späteren Jahrringen ihren erkennbaren Anfang haben.

Im Anfang der Arbeit wurde betont, daß eine völlige Analogie von Kropfeiche, Knollenkiefer und Kropffichte nicht behauptet werden soll. Analogieschlüsse und verallgemeinerte Vorstellungen führten verschiedene Autoren zu einer falschen Schilderung des Krankheitsbildes. Eine geschlossene Theorie über die Ursache zur Knollenbildung zu entwickeln, dürfte noch verfrüht sein. Da es aber unmöglich ist, mit unseren Waldbäumen eine Anzahl von Versuchen anzustellen, die schon bei einjährigen Pflanzen große Schwierigkeiten haben, ist ein Vergleich und dort, wo die Beobachtung fehlt, ein Analogieschluß gerechtfertigt.

Im Folgenden möchte ich deshalb eine kurze Gegenüberstellung der von H. de Vries bearbeiteten Bildungsabweichungen und der hier behandelten Knollenbildungen vornehmen:

1. Bei ganz verschiedenen Pflanzen finden sich dieselben Bildungsabweichungen (Fasziationen, Zwangsdrehungen usw.). Ob die Eichenkropfkrankheit, die Knollenkiefer und die Kropffichte im Grunde ebenfalls die gleiche Erscheinung sind, wurde oben erörtert. Hinzuzufügen ist noch, daß die Eichenkropfkrankheit an ausgesprochener Stiel- und Traubeneiche vorkommt.

2. Bestimmte Behandlung (Erziehung in lockerem Schluß, S. 246) förderte die Häufigkeit der Bildungsabweichungen. Gunst und Ungunst der Witterung des Jahres hatten in den Versuchen von H. de Vries Einfluß (S. 246). Die Bildungsabweichungen sind also von äußeren Einflüssen abhängig. Diesem Verhalten würde entsprechen, daß die Eichenkropfkrankheit in bestimmten Zeiten und an bestimmten Orten (vgl.

Abb. 10 und 11) besonders hervortritt, die Knollenkiefer oft gruppenweise auftritt, im Bestande in einer gewissen Höhe, die für verschiedene Bestände wechselt, und am Bestandesrande an einem größeren Stammteil die Knollen trägt.

3. In jedem Fall handelt es sich um die Erkrankung eines Meristems, nicht um die Neubildung eines solchen. Die von H. de Vries beschriebenen Bildungsabweichungen sind Erkrankungen eines primären, die hier beschriebenen eines sekundären Meristems.

4. Der Grad der Monströsität ist bei den einzelnen Pflanzen verschieden. Fast gesunde Pflanzen und stark knollige stehen unmittelbar benachbart. Auch zeigen verschiedene Pflanzen in ihren Knollen die Eigentümlichkeit der Krankheiten in einem verschiedenen Grade.

Als ein gewisser Unterschied ist jedoch nicht zu übersehen, daß von den abnormen Stengeln der von H. de Vries beschriebenen Pflanzen normale Zweige ausgehen, wohingegen eine Gesundung kropfkranken Kambiums nicht beobachtet wurde.

Sollte eine Übertragung der von H. de Vries gefundenen Gesetze auf die Kropfkrankheit gestattet sein, so müßten folgende Sätze die forstliche Praxis besonders interessieren:

Der Grad, in welchem eine Pflanze monströs ist, ist nicht entscheidend für die Erblichkeit. Die Erblichkeit drückt H. de Vries in der „Erbzahl“ aus, die den Anteil der monströsen Pflanzen an der Gesamtzahl der Nachkommenschaft bedeutet. Er unterscheidet danach arme und reiche Rassen.

Atavisten (normale Nachkommen mißbildeter Pflanzen) zeigen in ihrer Nachkommenschaft die gleiche Erbzahl.

Selektion mit dem Ziel, möglichst viele mißbildete Pflanzen zu erhalten, hatte sehr verschiedene Ergebnisse.

Dieser Vergleich mit den Befunden von H. de Vries löst natürlich nicht die Frage, welches der Anlaß zur Knollenbildung ist. Jedes Lebewesen erhält seine Gestalt einerseits durch die Summe und das Zusammenspiel der gegebenen inneren Anlagen, welche die das Individuum grundlegende Ei- und Samenzelle mitführten, und anderseits durch die äußeren Umstände, unter welchen sich das Individuum von der Grundlegung an entwickelt hat (Johannsen). An den hier behandelten Erscheinungen hat beides beobachtet werden können, sowohl die Erblichkeit (innere Veranlagung) wie der Einfluß bestimmter Umweltfaktoren, welche in der gesteigerten Knollenbildung zu gewissen Zeiten und an bestimmten Orten ihren Ausdruck finden. Bei richtiger Auffassung des Begriffs kann man sagen, daß die hier beschriebenen Krankheiten erblich sind. Der das Krankheitsbild veranlassende Außenfaktor ist nicht bekannt. Ein Erreger konnte nicht gefunden werden, und die dauernde Anwesenheit eines solchen ist unwahrscheinlich, wollte man nicht annehmen, daß der-

selbe nur durch Vererbung von Zelle zu Zelle seinen Lebensraum vergrößert. Über die Natur der Erkrankung möchte ich noch folgende Vorstellung vortragen, um damit zu weiterer Forschung anzuregen: Die vegetative Vermehrung von Pflanzen mittels abgeschnittener Blattstückchen und andere Beobachtungen lehren, daß jede Pflanzenzelle bis zu einem bestimmten Alter und einem bestimmten Grad der Differenzierung fähig ist, den Keim für eine neue Pflanze zu bilden. In jeder Zelle müssen also einerseits alle Anlagen, anderseits regulierende Stoffe enthalten sein, also Stoffe, die entscheiden, ob z. B. ein Sproß oder eine Wurzel, ein Fruchtblatt oder ein vegetatives Blatt usw. gebildet werden soll. Dabei ist natürlich unbestritten, daß menschliches Denken den Bereich dieser Vorgänge voreinst nicht durchdringen kann. Bei der hier vorliegenden Krankheit geraten durch einen unbekannten Faktor der Umwelt bestimmte Anlagen oder regulierende Stoffe in eine Störung. Diese Störung tritt nun bei allen Abkömmlingen der erkrankten Kambiumzellen auf.

#### E. Zusammenfassung.

Die Arbeit behandelt die Eichenkropfkrankheit und die Knollenbildung bei Kiefer und Fichte. Die drei Erscheinungen werden anatomisch, in ihrer Verbreitung in stark betroffenen Beständen und in der Verteilung der Knollen am Stamm untersucht. Auf diese Weise wurde die Vererbung einer Veranlagung zur Knollenbildung und die Abhängigkeit von der Umwelt nachgewiesen. Der eigentliche Erreger oder Anlaß zur Knollenbildung konnte nicht gefunden werden. Die Veranlagung der kranken Pflanzen spielt eine so bedeutende Rolle, daß man von einer Erblichkeit der Krankheit sprechen kann.

Damit ist die Warnung von v. Tubeuf (1930), der die Verbreitung der Knollenkiefer durch Samen aus erkrankten Beständen vermutet, für alle drei Erscheinungen gerechtfertigt. In jedem Fall ist die im Anfang so unscheinbare Knollen- oder Kropfanlage durchaus nicht als bedeutungslos zu übersehen, da der Stamm im Alter erheblich an Wert verliert. Ferner ist zu befürchten, daß die Krankheit durch Wechselbefruchtung Verbreitung erfährt. Aus diesen Gründen sollten auch nur spurenhaft erkrankte Pflanzen schon in jungen Beständen unbedingt entfernt werden.

Eine Anzahl falscher Angaben über die Krankheitsbilder, die oft in der Literatur wiederholt werden, wurden richtig gestellt, und insbesondere wurde die häufig auftretende Ansicht, es handele sich bei derartigen Bildungen um die Wucherungen parenchymatischer Gewebe oder einen Zusammenhang mit Knospenanlagen, zurückgewiesen.

---

Die vorliegende Arbeit wurde im Frühjahr 1935 begonnen und im Sommer 1936 abgeschlossen. Sie entstand im Institut für Botanik und

Technische Mykologie an der Forstlichen Hochschule Hann.-Münden unter Leitung von Herrn Professor Dr. Jahn. Ihm bin ich für dauernde Förderung der Arbeit und umfangreiche Gewährung der Arbeitsmöglichkeiten des Instituts zu größtem Dank verpflichtet. Besonderen Dank schulde ich auch Herrn Forstassessor Dr. Rohde für das rege Interesse am Fortgang meiner Arbeit und die häufige stets bereite Beratung. Fräulein Runge, technische Assistentin des Instituts, half mir oft, insbesondere bei der Aufnahme von Lichtbildern. Ihr und einigen nicht namentlich Aufgeführten möchte ich auch an dieser Stelle bestens danken.

## F. Literaturverzeichnis.

### I. Zur Eichenkropfkrankheit.

- Ratzeburg. Die Waldverderbnis. Bd. 2 (1868), S. 450, u. Tafel 45 a.
- Henschel. Die Kropfkrankheit der Eiche, erzeugt durch die Eichenfinne *Gongrophyes quercina* n. sp. Cbl. f. d. ges. Forstw. 8. Jahrg. (1882), S. 54.
- Henschel. Schädliche Forst- und Obstbaumsekten. 3. Aufl. (1895), S. 575. Zitiert nach Laubert (1910).
- Herrmann. Zur Kropfbildung bei der Eiche. Schriften der Naturforschenden Gesellschaft in Danzig, Bd. 11 (1904), S. 113—119.
- Laubert, Rätselhafte Kropfbildungen an Eichen, Birken- und Rosenzweigen. Deutsche Landw. Presse, XXXVI. Jahrg. 19 (1910).
- Finckenstein, Graf v. Merkwürdige krebsartige Erkrankung der Stieleichen (Trossin). Mitteilungen der Dendrol. Ges. 1912, S. 340.
- Régaméy. Sur le cancer chez les végétaux. Comptes rendus des séances de l'académie des sciences. 2. Halbj. 1914, Bd. 159, S. 747.
- Cieslar. *Microspira carcinopaeus*, Erreger einer krebsartigen Erkrankung von Eichen. Cbl. f. d. ges. Forstwes. 1915, S. 308.
- Küster. Pathologische Pflanzenanatomie. 2. Aufl. (1916), Jena.
- Heß-Beck. Forstschutz. 5. Aufl., 2. Bd., S. 217.
- Sorauer (Schlumberger). Hdb. der Pflanzenkrankheiten, 1. Bd., 6. Aufl. (1934), Berlin.

### II. Zur Knollenkiefer.

- Klein, L. Forstbotanik (Lorey's Hdb. der Forstwiss.) 1926, Bd. 1, S. 726.
- Liese, J. Knollenbildung bei Kiefer. Silva Bd. XVIII (1930), Nr. 19, S. 150—151.
- Tubeuf, Freiherr v. Das Problem der Knollenkiefer. Ztschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz, Bd. 40 (1930), S. 225—251.
- Tubeuf, Freiherr v. Scheinmarkstrahlen im Holze der Kiefer. Wie vor. S. 353—356.
- Tubeuf, Freiherr v. Die Kurztriebe der Kiefer. Wie vor. S. 465—492.

### III. Zur Kropffichte.

- Klein, L. Forstbotanik (Lorey's Hdb. der Forstwiss. 1913), S. 370.

### IV. Sonstige Literatur.

- Abromeit. Über die Anatomie des Eichenholzes. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 15 (1884), S. 209.

- Beijer. Die Vermehrung der radialen Reihen im Kambium. Rec. de Trav. bot. Néerl. Bd. 24.
- Büsgen-Münch. Bau und Leben unserer Waldbäume. 3. Aufl., 1927, Jena.
- Eames. On the origin of the broad ray in *Quercus*. Bot. Gaz. Bd. XLIX. 1910.
- Hartig, R. Untersuchungen über die Entstehung und die Eigenschaften des Eichenholzes. Forstl. naturw. Ztschr. 1894.
- Herrmann. Merkblatt zur Untersuchung der reinen Eichenarten. Neumann, Neudamm (ohne Jahreszahl).
- Jost. Über einige Eigentümlichkeiten des Kambiums der Waldbäume. Bot. Zeitg., Jahrg. 19 (1901), S. 1.
- Klinken. Über das gleitende Wachstum der Initialen im Kambium der Koniferen und den Markstrahlverlauf in ihrer sekundären Rinde. Bibl. bot. Heft 84 (1914).
- Kny. Über den Einfluß von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich teilenden Pflanzenzellen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 37 (1902), S. 55.
- Krick. Über die Rindenknollen der Rotbuche. Bibl. bot. 1891, Bd. 25.
- Küster. Pathologische Pflanzenanatomie. 2. Aufl., 1916.
- Molividov. Cbl. f. Bakter. II. Abt. Bd. 68. 1926. S. 339.
- Noeff. Über die Umlagerung von Kambiumzellen beim Dickenwachstum von Dikotylen. Ztschr. f. Bot. XII (1920), S. 225.
- Noeff. Über polares Wachstum von Pflanzenzellen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 61 (1922), S. 205.
- Oehlkers. Stiel- und Traubeneichel. Eine variationsstatistische Untersuchung. Ztschr. f. Forst- u. Jagdwes., Bd. 45 (1931), S. 18.
- Pfeiffer. Das abnorme Dickenwachstum. Hdb. der Pflanzenanatomie (K. Lindsbauer), Abt. II, Teil 2, Berlin 1926.
- Raatz. Die Stabbildungen im sekundären Holzkörper der Bäume und die Initialentheorie. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 23 (1892).
- Schröter. Über die Vielgestaltigkeit der Fichte (*Picea excelsa* Link). Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft Zürich, Jahrg. XLIII (1898), Heft 2 und 3.
- Sorauer. Hdb. der Pflanzenkrankheiten, Bd. 1 (6. Aufl. 1934).
- Späth. Der Johannistrieb. Berlin 1912.
- de Vries, H. u. Klebahns. Arten und Varietäten. Berlin 1906.
- Zijlstra. Die Gestalt der Markstrahlen im sekundären Holze. Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais. Vol. V (1908), S. 17—50.

